

AUS DEM ANATOMISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT ZÜRICH

Direktor: Prof. Dr. med. Gian Töndury

**Über quantitativ gestufte Defektversuche
an der dorsalen Urmundlippe junger Gastrulae
von Triton alpestris**

HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung der Venia legendi der medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

DR. MED. ROBERT SCHENK

von Zürich

Prosektor am anatomischen Institut Zürich

ZÜRICH 1952



Aus dem Anatomischen Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. med. GIAN TÖNDURY).

ÜBER QUANTITATIV GESTUFTE DEFEKTVERSUCHE
AN DER DORSALEN URMUNDLIPPE JUNGER GASTRULAE
VON *TRITON ALPESTRIS*.

Von

ROBERT SCHENK.

Mit 21 Textabbildungen (37 Einzelbildern).

(Eingegangen am 17. September 1951.)

Inhaltsverzeichnis.

I. Einleitung S. 347. — II. Material und Methodik S. 350. — III. Untersuchungsergebnisse S. 352. — IV. Diskussion S. 370. — Zusammenfassung S. 385. Literatur S. 386.

I. Einleitung.

Die Sonderstellung, die die dorsale Urmundlippe der jungen Amphibiengastrula bei der Bildung der embryonalen Grundgestalt einnimmt, ist durch zahlreiche experimentelle Arbeiten schon lange bekannt. Die grundlegenden Erkenntnisse, die wir vor allem der SPEMANNschen Schule verdanken, stützen sich methodisch auf einige immer wiederkehrende Versuchsanordnungen. Wird Material der dorsalen Urmundlippe an eine andere Stelle der Keimoberfläche, z. B. in die ventrale Randzone einer anderen Gastrula transplantiert, so kann es dort seine herkunftsgemäße Invaginationstendenz durchsetzen. Durch Assimilation werden benachbarte Teile des Wirts in diese Gastrulationsbewegungen einbezogen und zum Aufbau eines harmonisch gegliederten Achsenskelettes verwendet, das in dem darübergelegenen Wirtsektoderm eine sekundäre Medullarplatte induziert. Aus allen diesen Vorgängen resultieren schließlich mehr oder weniger vollständige sekundäre Embryonalanlagen. Diese hervorstechenden Eigenschaften führten SPEMANN dazu, die dorsale Urmundlippe als Organisationszentrum zu bezeichnen; unter diesem Begriff verstehen wir heute allgemein die Fähigkeit dieses Materials zur Selbstorganisation, zur Assimilation benachbarter Blasteme und zur neuralen Induktion (vgl. LEHMANN 1945). Auch im „Einsteckversuch“ (MANGOLD 1933), bei dem das Organisatormaterial durch einen Schlitz im animalen Dach ins Blastocöl einer jungen Gastrula gebracht wird, kommen diese Eigenschaften, vor allem die neurale Induktionsfähigkeit, zum Ausdruck. Die isolierte Aufzucht von Keimfragmenten in einer indifferenten Salzlösung (HOLTFRETER 1936, 1938) gibt wesentliche Einblicke in das Selbstorganisationsvermögen entsprechender Keimteile.

Diesen Experimenten sind die Defektversuche gegenüberzustellen. Sie haben zum Ziel, durch Entfernung von Teilen der dorsalen Urmundlippe regionale Ausfälle im Urdarmdach zu erreichen, die, wie LEHMANN (1926, 1928) zeigen konnte, Störungen in den entsprechenden Abschnitten der Medullarplatte nach sich ziehen. Wird der Eingriff an jungen Gastrulae ausgeführt, dann werden die kranialen Bezirke des Urdarmdaches betroffen und es kommt zur Entwicklung von Keimen, die Mißbildungen im Sinne einer mehr oder weniger ausgeprägten Mikrocephalie aufweisen (TÖNDURY 1937, LEHMANN 1938, SHEN 1938). Mit fortschreitendem Alter der Gastrula verlagert sich der Schwerpunkt der durch analoge Defekte gesetzten Störungen ins Rumpfbereich und noch weiter caudalwärts. Die gleichen Eigenschaften, die im Transplantationsexperiment das Material der dorsalen Urmundlippe zu Leistungen befähigen, die weit über seine prospektive Bedeutung hinausgehen, führen im Defektversuch zu einem weitgehenden Ersatz der entfernten Teile; ein Vorgang, der als Regulation bezeichnet wird. Zahlreiche Versuche beweisen, daß insbesondere das präsumptive Kopfdarmdach ein ganz hervorragendes Regulationsvermögen besitzt und imstande ist, auch ausgedehnte Defekte fast vollständig zu kompensieren (TÖNDURY 1937, SHEN 1938 u. a.).

Im Transplantations- und im sog. Einsteckversuch treten Unterschiede in den Induktionsleistungen auf, die die dorsalen Urmundlippen junger oder älterer Gastrulae hervorbringen. Diese Tatsache hat SPEMANN dazu geführt, das gesamte Organisatorblastem in zwei große Regionen zu unterteilen: den Kopf- und den Rumpfororganisator. In großen Zügen wird diese Interpretation den experimentellen Befunden gerecht. Eine verfeinerte Untersuchungstechnik deckte aber noch weitergehende regionale Unterschiede auf, und es war wieder LEHMANN, der 1938 durch seine Defektversuche und vor allem auf Grund der phasenspezifischen Empfindlichkeit gegenüber Lithium eine neue Einteilung des Organisatorblastems vorschlug. Der Kopfbereich zerfällt nach seinen Ergebnissen in eine *archencephale* und eine *deuteroencephale* Region, Rumpf und Schwanzknospe werden als *spinocaudale* Region bezeichnet. Das Archencephalon umfaßt das Vorderhirn mit den Riechplakoden und das Zwischenhirn mit den Augen. Der ihm zugeordnete Teil des Urdarmdaches, der für die Induktion dieser Organe verantwortlich ist, besteht aus dem rostralen Abschnitt der prächordalen Platte und dem mandibularen Mesoderm. Zum Deuteroencephalon gehören Mittelhirn, Rautenhirn und verlängertes Mark nebst den Ohrbläschen; seine Unterlagerung wird durch den hinteren Teil der prächordalen Platte, das Vorderende der Chorda und die Kopfsomitomen gebildet. Diese Gliederung hat sich für die Deutung vieler experimenteller Befunde als sehr wertvoll erwiesen. Eine besondere Stütze erfuhr sie durch den Nachweis einer regionalspezifischen Wirkung toter In-

duktoren, der durch CHUANG (1939, 1940) und TOIVONEN (1940) erbracht wurde. Verschiedene Organe induzieren in frischem oder gekochtem Zustand entweder vorwiegend archencephale oder deuterencephale Organkomplexe. In den Grundzügen wurde die Einteilung LEHMANNs in den letzten Jahren von zahlreichen Autoren übernommen, wobei allerdings DALCQ (1946) andere Bezeichnungen einführt und von einem Acrencephalon und Chordencephalon spricht, um darin die Beziehung dieser Regionen zu den beiden großen Induktionsfeldern zum Ausdruck zu bringen. Da über die stoffliche Natur des Induktors wohl kein Zweifel besteht, neigen die Vertreter der aufgezeigten Gedankengänge dazu, in den beiden großen Induktionsfeldern des Kopforganisators zwei qualitativ verschiedene Induktionsstoffe anzunehmen, die im noch nicht determinierten Ektoderm der jungen Gastrula die Bildung regional-spezifischer Organkomplexe hervorrufen.

Diese Ansichten sind aber nicht unwidersprochen geblieben. So hat PASTEELS (1945) an einem umfangreichen Material (Amblystoma und verschiedene Tritonarten) die Lithiumwirkung eingehend überprüft. Entgegen den von LEHMANN (1938, 1942) vertretenen Anschauungen verneint er phasenspezifische Unterschiede in der Empfindlichkeit des pharyngodorsalen (= archencephaler Induktor) und chordamyotomalen (= deuterencephaler und spinaler Induktor) Blastems. Die durch Lithium verursachte Störung breitet sich vielmehr mit zunehmender Schädigung in kranio-caudaler und dorso-ventraler Richtung aus. PASTEELS schließt daraus auf ein quantitativ gestuftes Gefälle im induzierenden Agens im Sinne eines kranio-caudalen und dorso-ventralen Gradientfeldes. Auf der andern Seite hat NIEUWKOOP (1947) bei seinen Untersuchungen über die regionale Determination des Zentralnervensystems der Amphibien auf das Transplantationsexperiment zurückgegriffen. Material aus der dorsalen Urmundlippe wurde in die ventrale Randzone anderer junger Gastrulae gebracht und induzierte sekundäre Embryonalanlagen, die eine stufenweise Reduktion des Gehirns aufwiesen. Auf Grund seiner Befunde nimmt NIEUWKOOP ein mesodermales und ein ektodermales Gradientfeld an, die miteinander in Reaktion treten. Daraus resultieren im Gehirn mindestens 7 Realisationsstufen, wobei sich die caudalen Hirnteile vor den kranialen durchsetzen. Jede dieser Stufen kann bei zunehmender Reduktion in kranio-caudaler Richtung endständig werden, die caudal folgenden Abschnitte des Zentralnervensystems sind dann wenigstens in bezug auf ihre „primären Strukturen“, d. h. in den wichtigsten Kernen und Kommissuren, normal ausgebildet (s. S. 376).

Bei der Problematik der hier aufgeworfenen Fragen schien es uns angebracht, die von TÖNDURY 1937 zur experimentellen Erzeugung von Mikrocephalie ausgeführten Defektversuche fortzusetzen. Durch Variation

der Größe und der Lage der Defekte an einem genau festgelegten Gastrulationsstadium haben wir versucht, das Regulationsvermögen quantitativ zu erfassen und wenn möglich eine Beziehung zwischen dem Ausmaß der gesetzten Störung und dem Ausbildungsgrad der Mikrocephalie aufzudecken. Ferner hoffen wir, durch unser Material einen weiteren experimentellen Beitrag geben zu können für die zur Diskussion stehenden Probleme der Determination des Nervensystems und der Sinnesorgane der Amphibien.

II. Material und Methodik.

Die Versuche wurden an Keimen von *Triton alpestris* in der Laichperiode 1948 und 1949 ausgeführt. Instrumente und Glaswaren wurden im Trockensterilisator keimfrei gemacht, die Operation und Aufzucht der Embryonen erfolgte in abgekochtem Brunnenwasser, dem zur Verminderung der Infektionsgefahr ein Sulfonamidpräparat (Elkosin CIBA 2 g auf 1 Liter Wasser) beigegeben wurde. Operation und Aufzucht erfolgten in Glasschälchen mit Agarboden.

An quantitativ gestufte Defektversuche müssen verschiedene Anforderungen gestellt werden, wenn mit genügender Sicherheit vergleichbare Resultate erhalten werden sollen. Dies gilt insbesondere für Operationen im Gebiet des Kopforganisations, der, wie aus den zahlreichen einschlägigen Arbeiten hervorgeht, über ein hervorragendes Regulationsvermögen verfügt. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache haben wir uns bemüht, möglichst einheitliche Versuchsbedingungen zu schaffen, wobei vor allem folgende Punkte zu beachten waren:

1. Eine genaue Festlegung des Operationsstadiums.
2. Eine einwandfreie Bestimmung der Lage und der Größe des Defektes.
3. Kontrolle der Wundheilung und Protokollierung der weiteren Entwicklung unter Vergleich mit parallel aufgezogenen Kontrollkeimen.
4. Fixation der Keime in gleich weit fortgeschrittenen Entwicklungsstadien.

Als Kriterium für die Festlegung der Gastrulationsstadien wird in den Normentafeln (GLÄSNER, HARRISON) die Form des Urmundes herangezogen. Im Beginn der Gastrulation wird ein queres, spaltförmiges Urmundgrübchen angegeben, das in der individuellen Form aber eine nicht geringe Variation zwischen quergestelltem Spalt, halbmondartigem oder auch winklig eingeknicktem Bogen und trichterförmiger Einziehung aufweist. Zudem hat PASTEELS (1942) darauf aufmerksam gemacht, daß während 4—6 Std die Gastrulation fortschreiten kann, ohne daß die äußere Form des Urmundes sich verändert. Die Menge des bereits invaginierten Materials läßt sich in diesen Stadien an der äußeren Form des Urmundes nicht abschätzen. Wir haben deshalb als Zeitpunkt für die Operation den Beginn der Gastrulation gewählt, der durch das Sichtbarwerden der Urmundfurche gekennzeichnet ist (Stadium 7 nach

GLÄSNER, 9 nach HARRISON). Dieses Stadium bietet zudem Gewähr dafür, daß alles Randzonenmaterial noch in der Keimoberfläche ausgebreitet ist und leicht in der gewünschten Größe entfernt werden kann.

Zur Bestimmung der Defektgröße wurde in die binokulare Lupe ein graviertes Quadratnetz eingebaut. Die Seitenlänge des Quadrates beträgt 5 mm, die Fläche ist in 100 Quadrate aufgeteilt. Bei der verwendeten Optik wurde dieses Quadratnetz im Maßstab 1:2 in der Einstellebene abgebildet. Mit dieser Einrichtung konnten die Keime der Größe nach sortiert werden. Vor der Operation wurden sie immer in gleicher Weise orientiert, wobei die Urmundfurche als Marke diente. Durch Einstiche mit einer feinen Platindrahtnadel wurden die Eckpunkte des gewünschten Defektes auf der Keimoberfläche markiert und das Material sauber mit Platindrahtnadel und Öse entfernt. Sofort nach der Entnahme Kontrolle der Defektgröße und Beobachtung des Wundverschlusses, der durch konzentrisches Zusammenziehen der Wundränder in der Regel sofort einsetzte und im Laufe von 30—90 min vollständig war. An Stelle des Defektes bildete sich ein neuer Urmund, und die Gastrulation konnte weitergeführt werden. Parallel zu jedem Keim wurde ein Kontrollkeim, der ebenfalls aus dem Dotterhäutchen befreit worden war, aufgezogen. Dies erwies sich als eine große Erleichterung für die Beurteilung der weiteren Entwicklung. Eine erhöhte Mortalität in einzelnen Versuchsreihen konnte bei gleichzeitigem Befall der getrennt gehaltenen Kontrollen in einigen Fällen auf eine äußere Infektion einer Eiablage zurückgeführt werden.

Die Aufzucht mikrocephaler Defektkeime begegnet seit der Einführung bakteriostatischer Stoffe bedeutend weniger Schwierigkeiten als früher. Immerhin betrug die Mortalität noch etwa 24%. Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß die Keime viel später fixiert wurden als in früheren Arbeiten anderer Autoren (TÖNDURY 1937, SHEN 1938); in den ersten Versuchen 1 Woche, in späteren erst 3 Wochen nach der Operation. 7—10 Tage nach dem Eingriff treten die Keime in ein kritisches Stadium, in dem ihre Anfälligkeit gegen Infektionen stark ansteigt. Am Schluß dieser Periode liegt dann eine schon weitgehend differenzierte Epidermis und ein funktionierendes Kreislaufsystem vor, so daß sich Keime, die diese Phase überwunden haben, ohne Schwierigkeiten weiterzüchten lassen. Mit dem Aufbruch des Dotters müssen die Versuche abgebrochen werden, da bei zahlreichen mikrocephalen Keimen die Ausbildung der ektodermalen Mundbucht unterbleibt und eine Fütterung ausgeschlossen ist. In diesem Augenblick ist die histologische Differenzierung aber schon so weit gediehen, daß die Auswertung mit aller nur wünschbaren Genauigkeit erfolgen kann. Wechseln der Glasschälchen und Erneuerung der Zuchtlösung unter Zusatz einiger Tropfen wäßriger Penicillinlösung (20000 E je Kubikzentimeter) scheinen in der kritischen Phase bei gefährdeten Keimen oft einen günstigen Einfluß auf die weitere Entwicklung zu haben.

Die Keime wurden regelmäßig kontrolliert und die Veränderungen in den Protokollen aufgezeichnet. Nach 1 Woche wurde von jedem Keim eine seitliche Übersichtsaufnahme angefertigt, vor der Fixation wurden die Larven nochmals fotografiert. Das Kleinbildverfahren erwies sich dabei durch seine Handlichkeit und die Materialersparnis als sehr vorteilhaft (Kine Exakta mit Zwischenringen und Mikroobjektiven, auf der binokularen Lupe von Leitz durch eine einfache Vorrichtung gegen den optischen Teil der Lupe auswechselbar).

Fixation der Keime in Bouin, Einbettung über Methylbenzoceloidin in Paraffin. Querschnittserien von 10 μ Schnittdicke, Färbung in Feulgen-Pikroblauschwarz oder H.-E.-Orange.

Im ganzen wurden 158 Keime operiert, die sich auf 4 Serien mit verschiedenartigem Defekt verteilen (vgl. S. 386, Abb. 18). 104 Keime konnten histologisch ausgewertet werden.

Im folgenden Abschnitt sollen zuerst an Hand einiger typischer Fälle die verschiedenen Reduktionsstufen beschrieben werden. Diese vermitteln die Grundlage für das Verständnis der Gesichtspunkte, nach denen die Klassierung der Defektkeime vorgenommen wurde. Daran schließt sich die Aufstellung über die 4 Operationstypen und die Übersicht über die Resultate der 4 Versuchsserien an.

III. Untersuchungsergebnisse.

Um eine Vergleichsbasis für die verschiedenen mikrocephalen Reduktionstypen zu schaffen, ist es unumgänglich, die normale Ausbildung der Kopforgane einer auf der gleichen Entwicklungsstufe fixierten Kontrollarve zu beschreiben. Um Form und Topographie dieser Organe anschaulich wiederzugeben, wurden

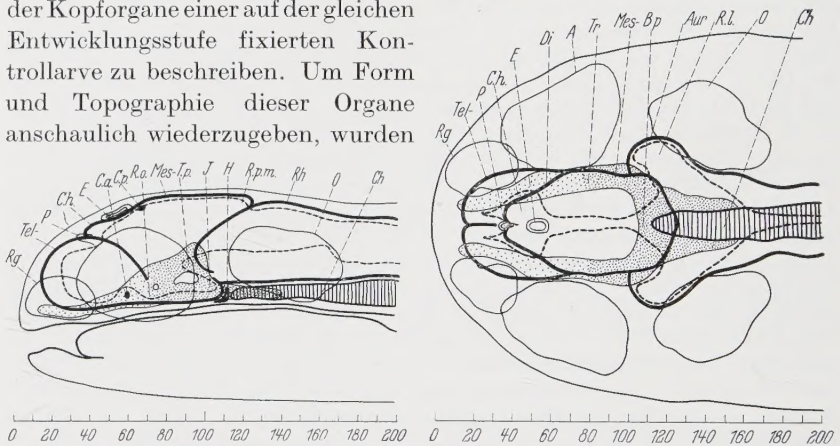


Abb. 1. Kopfausbildung einer 3 Wochen alten Kontrollarve *T. a.* 83 K. Projektion der Kopforgane auf die Sagittal- und die Frontalebene. Konturen des Gehirns = dicke Linie; Ventrikel = gestrichelt; Epidermis, Sinnesorgane, Para- und Epiphyse = dünne Linie; Konturen des Kopfdarms mitteldick. Neurocranium: Neuralleistenmaterial locker, entomesodermales Material dicht punktiert. Chorda schraffiert. Bezeichnungen: *A* Auge, *Aur* Aurikel, *Bp* Basalplatte, *C.a* Commissura anterior, *Ch* Chorda, *C.h* Corpora habenulae, *C.p* Commissura posterior, *Di* Diencephalon, *E* Epiphyse, *H* Hypophyse, *J* Infundibulum, *Mes* Mesencephalon, *O* Ohrbläschen, *P* Paraphyse, *Rg* Riechplakode, *Rh* Rhombencephalon, *R.l* Recessus lateralis ventriculi IV, *R.o* Recessus opticus, *R.p.m* Recessus posterior mesencephali, *Tel* Telencephalon, *T.p* Tuberculum posterius, *Tr* Trabekel.

aus den Querschnittsserien die wesentlichen Bauelemente in der Projektion auf die Sagittal- und die Frontalebene im Maßstab 1:100 rekonstruiert. Die von allen Keimen vor der histologischen Verarbeitung gewonnenen seitlichen und dorsalen Übersichtsaufnahmen lieferten die für die Rekonstruktion notwendigen Bezugslinien. Einzelne Querschnittsbilder ergänzen den durch die Zeichnungen gegebenen Übersichtsplan und belegen die feineren histologischen Einzelheiten.

Das Gehirn der Urodelen läßt sich im Embryonalstadium in 3 größere Abschnitte gliedern: Prosencephalon, Mesencephalon und Rhombencephalon. Diese sind bald nach Schluß des Neuralrohres als drei durch Furchen gegeneinander abgesetzte Bläschen sichtbar. Die weitere Entwicklung führt zu einer fortschreitenden Gliederung und Differenzierung, und an einer 3 Wochen alten Tritonlarve (Abb. 1, *T. a.* 83 K) sind die Form- und Lagebeziehungen des Am-

phibiengehirns schon eindeutig festgelegt. Aus dem Prosencephalon sind das Telencephalon und das Diencephalon hervorgegangen, deren räumliche Nachbarschaft zu den Riechplakoden bzw. den Augen schon auf die anatomischen und funktionellen Beziehungen zu diesen Sinnesorganen hinweist. Das Telencephalon besteht aus einem unpaaren, median gelegenen Teil und den beiden Hemisphären, die durch die Nn. olfactorii mit den Riechplakoden in Verbindung stehen. Das caudal folgende Diencephalon überlagert mit seinen rostralen Anteilen, den beidseits der Sagittalebene nach vorne ausladenden Corpora habenulae, dorsal und median die hintere Hälfte des Telencephalon. Zwischen den Corpora habenulae liegt die Paraphyse, die aus dem Dach des Telencephalon impar an der Grenze zum Diencephalon als tubulöses Gebilde in dorsorostraler Richtung vorgewachsen ist und in offener Kommunikation mit dem Ventrikel steht (KAPPERS 1950). Etwas weiter caudal ist die Epiphyse dem Diencephalon aufgelagert. Die Grenze zwischen Diencephalon und Mesencephalon wird auf der Dorsalseite durch die Commissura posterior markiert, die auf den Querschnitten leicht zu lokalisieren ist. Auf der Ventralseite findet sich am Übergang des Telencephalon in das Diencephalon in einer Verdickung der Bodenplatte die Commissura anterior. Im Hypothalamus besitzt der 3. Ventrikel zwei ventralwärts gerichtete Vertiefungen, den hinter der Commissura anterior gelegenen Recessus opticus und das mehr caudalwärts gerichtete Infundibulum. Dicht an das Infundibulum angeschmiegt hat sich die Hypophyse entwickelt. Zwischen Diencephalon und Rhombencephalon schiebt sich keilförmig das Mesencephalon. Seine rostrale Grenze wurde in der Commissura posterior bereits erwähnt. Durch den Recessus posterior mesencephali reicht es eine Strecke weit über das Dach des Rhombencephalon caudalwärts. Ventral wird ihm das als quergestellte Platte zwischen Infundibulum und den dorsalen Abschnitten des 3. Ventrikels vorgeschobene Tuberculum posterius zugerechnet. Das Rhombencephalon besitzt eine breit ausladende Bodenplatte und ein ependymales Dach. Auf der Frontalansicht sind die beiden lateral vorspringenden Aurikel zu erkennen, in die sich die Recessus laterales des Ventriculus IV erstrecken. Seitlich davon liegen die Ohrbläschen, deren Sinnesepithel durch die Nn. stato-acustici mit den ihm zugeordneten Kernen der Rautengrube in Verbindung steht. Die Medulla oblongata nähert sich in der äußeren Form und im Querschnittsbild allmählich dem Rückenmark, der Ventrikel verschmälert sich rumpfwärts zu einem sagittal gestellten Spalt.

Bei der großen Bedeutung, die dem Urdarmdach bei der Induktion der Medullarplatte zukommt, wurde auch das Neurocranium in die Rekonstruktion aufgenommen. Die aus dem mandibularen Mesoderm stammende Muskulatur und das zum größten Teil aus Neuralleistenmaterial aufgebaute Viszeralskelett konnten aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht eingezeichnet werden, lassen sich aber an den abgebildeten Querschnitten gut beurteilen (Abb. 3b, 5b, 6c, 6d). Die knorpeligen Anteile des Neurocranium bestehen aus den beiden Trabekeln, die das ganze Telencephalon und Diencephalon unterlagern und sich am Übergang zum Rhombencephalon mit der Basalplatte vereinigen. Im Zentrum der Basalplatte liegt die Chorda dorsalis, deren Vorderende fast an die Hypophyse heranreicht. Die caudalen Partien der Basalplatte, auch als Parachordalia bezeichnet, stehen lateral mit der knorpeligen Ohrkapsel in Verbindung (auf der Rekonstruktion nicht angegeben). Die Knorpel des Neurocranium sind nicht einheitlicher Herkunft. Die Basalplatte und der caudale Teil der Trabekel haben sich aus dem Entomesoderm entwickelt, während die rostralen Partien der Trabekel aus Neuralleistenmaterial (Ektomesenchym) aufgebaut sind. Dieser Unterschied muß für die Beurteilung der Korrelation zwischen der Reduktion der Unterlagerung und des Zentralnervensystems im Auge behalten werden. Nur das entomesodermale Material spielt bei der Induktion der Medullarplatte eine Rolle, induziert gleichzeitig die Bildung der Neuralleiste, deren Zellen auf beiden Seiten des Neuralrohres ventralwärts

auswandern und für ihre weitere Differenzierung von der Ausbildung des Vorderhirns und des Entomesoderms abhängig sind (HÖRSTADIUS und SELLMANN 1946, HÖRSTADIUS 1950). Das Lumen des Kopfdarms ist auf der Sagittalan­sicht eingetragen; die Mundöffnung und die rostralen Abschnitte gehören zur ektodermalen Mundbucht, an die sich im Gebiet des Rhombencephalon der Kiemendarm anschließt.

Im folgenden werden nun einige Larven besprochen, die in der Ausbildung der Kopforgane eine fortschreitende Reduktion aufweisen. Die Keime wurden alle 3 Wochen nach der Operation fixiert und haben mit Ausnahme von *T. a.* 84 (S. 360), der einen leichten Entwicklungsrückstand erkennen ließ, histologisch das gleiche Entwicklungsstadium wie der besprochene Kontrollkeim *T. a.* 83 K erreicht. Bei der Klassierung wurden in Anlehnung an TÖNDURY (1937) Fälle mit geringgradiger, mittelgradiger und hochgradiger Mikrocephalie unterschieden, wobei im einzelnen für die Gruppierung etwas andere Kriterien herangezogen wurden. Eine *geringgradige Mikrocephalie* zeigt äußerlich eine Reduktion in der Größe des normal proportionierten Kopfes, verbunden mit Ausfällen und Lageveränderungen in den rostralen Partien des Prosencephalon und der Riechplakoden. Wie sich an Hand der Protokollaufnahmen feststellen läßt, ist diese Größenreduktion an jungen Entwicklungsstadien viel auffälliger als an den ausdifferenzierten Stadien, die sich den Kontrollen wieder stärker angeglichen haben. Bei der *mittelgradigen Mikrocephalie* dehnt sich der Defekt über die gesamte archencephale Region aus. Außer dem Telencephalon ist auch das Di-encephalon betroffen, in vielen Fällen begleitet von den als Synophthalmie und Cyclopie bekannten Mißbildungen. Eine *hochgradige Mikrocephalie* liegt nach den für unsere Klassierung maßgebenden Gesichtspunkten nur dann vor, wenn außer den Ausfällen im archencephalen Bereich Störungen in der Ausbildung der deuterencephalen Kopfab­snitte eingetreten sind. Diese sind häufig von einer ventral- und medianwärts gerichteten Verlagerung der Ohrbläschen begleitet, die das Charakteristikum der als Otocephalie bezeichneten Mißbildung darstellt.

a) *Geringgradige Mikrocephalie.*

T. a. 124 stammt aus der Serie B (s. S. 366, Abb. 18) und wurde auf dem Stadium der Urmundfurche operiert. Die Wunde war nach 30 min verheilt, Gastrulation und Neurulation verliefen ohne Abweichungen von der Kontrolle. Auf der nach 7 Tagen angefertigten Kontrollaufnahme zeigt sich bereits eine Störung in der Ausbildung des Kopfes: die Scheitelbeuge ist nur wenig ausgeprägt, die rostralen Abschnitte des Kopfes sind in der seitlichen und dorsalen Ansicht verschmälert und kegelförmig zugespitzt. Bei der Fixation waren diese Veränderungen immer noch zu erkennen, der Kopf war vorne zu schmal, die Augen waren etwas der Mediane genähert. Eine Mundöffnung war vorhanden, Haftfäden und Kiemenbüschel entsprachen in der Entwicklung der Kontrolle.

Die Rekonstruktion (Abb. 2) gibt über die Ausbildung der Kopforgane Aufschluß. Das ganze Archencephalon ist leicht nach dorsal durchgebogen, das Telencephalon ist vorne verschmälert. Die Hemisphären sind nicht vollständig über das

Telencephalon impar vorgewachsen und lassen dessen Vorderende in der Frontalansicht unbedeckt. In Übereinstimmung damit ist auch die Gliederung des Ventrikelsystems abnorm. Der unpaare Ventrikel des Telencephalon reicht weiter rostralwärts als die Seitenventrikel, die auch in der seitlichen Ausdehnung verschmälert sind. Die Annäherung der Riechplakoden an die Mediane unterstreicht die Reduktion, die die rostralen Kopfabschnitte erfahren haben. Das Lumen der

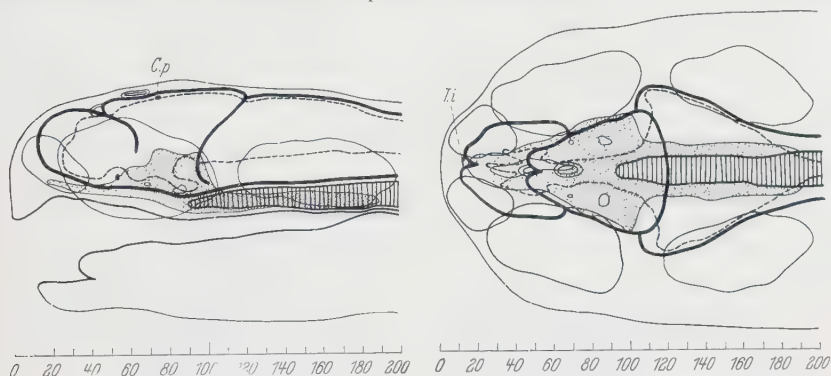


Abb. 2. Sagittale und frontale Rekonstruktion des Kopfes von *T. a. 124*. Gleiche Darstellung wie Abb. 1, *C.p.* Commissura posterior, *T.i.* Telencephalon impar.

Riechplakoden öffnet sich nach außen, endet caudal jedoch blind; die Choanen fehlen. Bei der Betrachtung des Neurocranium fällt vor allem die abnorme Lage der Trabekel auf. Im Zusammenhang mit der Reduktion des Telencephalon haben sich ihre aus Zellen der Neuralleiste aufgebauten vorderen Enden in der Mediane

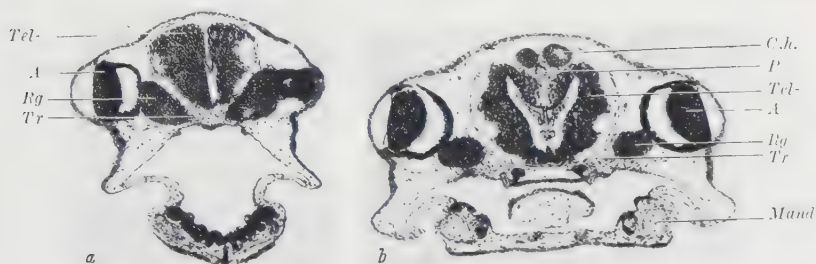


Abb. 3 a u. b. *T. a. 124*. a Querschnitt durch den Kopf auf Höhe des vorderen Augenpoles (Schnitt 34). *Tel-* Telencephalon, *A* Auge, *Rg* Riechplakoden, *Tr* Trabekel. b Querschnitt durch die vordere Kopfregion einer Kontrollarve (*T. a. 83 K*, Schnitt 41). *C.h.* Corpora habenulæ, *P* Paraphyse, *Mand* Mandibula.

genähert und sind rostral miteinander verschmolzen. Aber auch die caudalen Abschnitte der Trabekel, die sich aus der prächordalen Platte entwickelt haben, bilden eine in der Mediane zusammenhängende Knorpelplatte und sind in der seitlichen Ausdehnung gegenüber *T. a. 83 K* etwas eingeschränkt. In der Basalplatte tritt die Chorda im Vergleich zum Normalkeim einige Schnitte weiter kranial auf. Die Vorverlagerung der Chorda hat die normale Entwicklung der Hypophyse beeinträchtigt. Diese liegt nicht in der Medianebene, sondern ist zusammen mit den caudalen Anteilen des Infundibulum etwas nach der rechten Seite verschoben. Das Vorderende des Kopfdarms und die Mandibularspange sind ebenfalls zu schmal wie auf dem Querschnitt (Abb. 3a) zu erkennen ist. Dieser zeigt noch einmal recht

eindrücklich die Reduktion des Telencephalon mit den kleinen Hemisphären und dem unpaaren Ventrikel, die median genäherten Trabekel und Riechplakoden und die fehlende Ausbildung der Choanen. Die übrigen Kopfabschnitte sind mit Ausnahme einer geringen seitlichen Abplattung normal entwickelt.

b) Mittelgradige Mikrocephalie.

Wie bereits erwähnt, zeigen die Larven dieses Reduktionsgrades Anomalien im ganzen archencephalen Kopfbereich. Äußerlich erscheint der Kopf stark kegelförmig zugespitzt und ist oft dorsalwärts durchgebogen. In vielen Fällen fehlt die Mundöffnung. Am auffälligsten ist

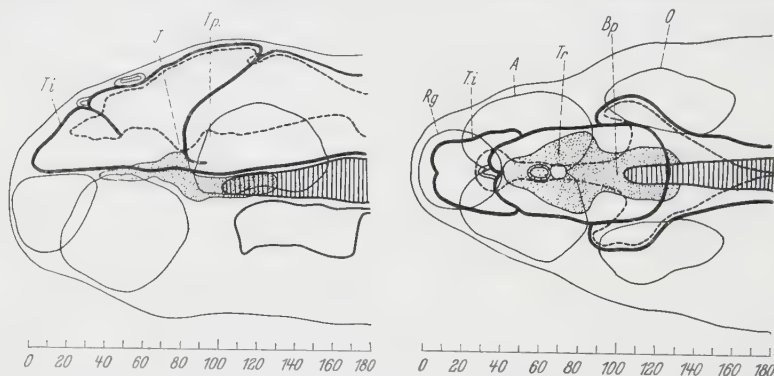


Abb. 4. Sagittale und frontale Rekonstruktion der Kopforgane eines synophthalmen Keimes *T. a. 130*. Darstellung vgl. Abb. 1. *T. i.* Telencephalon impar.

die Störung in der Augenregion. Die Augen sind im Sinne des cyclopischen Defekts ventralwärts verlagert und der Mediane genähert, und es sind alle Übergangsstufen von der leichten Synophthalmie bis zur reinen Cyclopie anzutreffen.

Der zur Reihe B gehörende Keim *T. a. 130*, der nach der Operation gut heilte und einwandfrei gastrulierte, ließ bereits als junge Neurula eine leichte Verkleinerung der kranialen Abschnitte der Medullarplatte erkennen. In der Folge blieb der Kopf in der Größenentwicklung deutlich hinter den Kontrollen zurück und mit dem Sichtbarwerden der Augenblasen zeigte sich eine ausgeprägte Synophthalmie. Nach 3 Wochen lag eine Larve vor, deren Kopf die Form eines vorne abgeplatteten Kegels besaß, an dessen Ventralseite, dicht benachbart, die beiden Augen saßen. Kurz dahinter entsprangen ebenfalls nahe der Medianlinie die Stützer. Eine Mundöffnung und die äußere Mündung der Riechgrübchen fehlten. Die Kiemen wurzelten an normaler Stelle und waren gut verzweigt, Extremitäten und Rumpf entsprachen völlig der Norm.

Die Rekonstruktion (Abb. 4) gibt ein klares Bild über die Ausgestaltung der Kopforgane. Das Telencephalon ist zu einem Telencephalon impar reduziert. Nur eine seichte Furche am Vorderrand des Gehirns deutet eine Unterteilung in die beiden Hemisphären an. Die Anordnung der Ganglienzellen und der Fasersubstanz läßt aber nichts mehr von einer solchen Gliederung erkennen. Der Ventrikel erscheint im Telencephalon als ein weiter, querer Spalt, der in den sagittal gestellten Ventrikel des Diencephalon übergeht. Auf der dorsalen Fläche hat sich die Para-

physe entwickelt. Im Diencephalon sind die dorsalen Abschnitte gut ausgebildet, die Corpora habenulæ, die Epiphyse und die die Grenze zum Mesencephalon bezeichnende Commissura posterior liegen an normaler Stelle. Eine eindeutige Reduktion hat dagegen der Hypothalamus erfahren. Der Recessus opticus fehlt, das Infundibulum ist nur noch durch eine ventralwärts gerichtete Vorwölbung des Ventrikels angedeutet. Eine Hypophyse ist nicht vorhanden. Das Mesencephalon zeigt ebenfalls nur im ventralen Bereich eine Veränderung durch die mangelhafte Differenzierung des Tuberculum posterius. Das Rhombencephalon ist vollkommen normal. Die Sinnesorgane zeigen im archencephalen Bereich typische Mißbildungen. Die Riechplakoden sind zu einer unpaaren, kugligen Anlage mit einem weiten Lumen vereinigt, das allseitig vollkommen abgeschlossen ist. Es liegt also eine Monorhinie vor. Caudalwärts schiebt sich dieses Organ noch ein Stück weit von dorsal

her zwischen die Augen. Diese sind auf den ersten Anschnitten noch getrennt, dann legen sich die benachbarten Blätter des Pigmentepithels



Abb. 5a u. b. Querschnitt durch die Augenregion a eines synophthalmen (*T. a.* 130) und b eines normalen Keimes (*T. a.* 83 K). Bezeichnungen wie Abb. 1. *Mand* Mandibula.

aneinander und werden durchbrochen. Auf mittleren Schnitten durch die Augen vereinigen sich die beiden Retinae ventral auf breiter Fläche (Abb. 5a). Die Differenzierung der Netzhaut ist schon weit fortgeschritten; die Sinneszellen, Ganglienzellen und die innere und äußere retikuläre Schicht sind gut abzugrenzen. Um so auffällender ist, daß ein Fasciculus opticus fehlt. Diese Tatsache ist schon mehrfach beschrieben worden (ADELMANN 1937 u. a.), und wir konnten sie an sämtlichen Keimen mit cyclopischen Defekt bestätigen. Das Neurocranium ist gegenüber *T. a.* 124 weiter zurückgebildet. Auf der Höhe des Zwischenhirns beginnt eine aus den vereinigten Trabekeln hervorgegangene schmale, median gelegene Knorpelplatte. Ihr rostraler, am stärksten reduzierter Teil ist aller Wahrscheinlichkeit nach aus Neuralleistenmaterial entstanden, aber auch die entomesodermalen Abschnitte haben sich nur unvollkommen entwickelt. In der Mitte dieser Platte bleibt eine kleine Öffnung ausgespart, durch die auf einem jüngeren Stadium der Augenblasenstiel den Boden des Zwischenhirns mit den Augenblasen verband. Einige der Länge nach stark ausgezogene Zellen deuten seinen Verlauf in dem untersuchten Stadium noch an, Nervenfasern können aber keine nachgewiesen werden. Die Trabekelplatte geht nach hinten in die Basalplatte über, in der an normaler Stelle die Chorda beginnt. Das Entoderm hat die Kopfepidermis nicht erreicht, im Zusammenhang damit hat sich keine ektodermale Mundbucht entwickelt. Das Vorderende des blind endigenden Kopfdarms ist etwas caudal von den ersten Schnitten durch die Chorda getroffen und setzt sich in einen leicht deformierten Kiemendarm fort. Die Mandibularregion bedarf noch einer besonderen Beachtung. Die aus dem mandibularen Mesoderm hervorgegangene Muskulatur schließt sich caudal an die Augen an und verbindet durch querverlaufende Muskelbündel die hinteren Pole des Pigment-

epithels. Eine zweite Muskelportion steht in enger Beziehung zu der aus den Trabekeln entstandenen Knorpelplatte und bildet wieder quere, in einem nach



Abb. 6a—d. Ausbildung der Mandibularregion bei einem synophthalmen (*T. a. 130*) und einem Kontrollkeim (*T. a. 83 K*). a Schnitt durch die vorderen Anteile des Rhombencephalon von *T. a. 130*. *M.K.* Mandibularknorpel. b Schnitt auf Höhe des hinteren Augenpoles von *T. a. 130*. Bezeichnung wie Abb. 1. *M.M.* Muskeln des mandibularen Mesoderms. c Schnitt durch den vorderen Abschnitt des Rhombencephalon des Kontrollkeimes *T. a. 83 K*. d Schnitt auf Höhe des hinteren Augenpoles eines Kontrollkeimes *T. a. 83 K*.

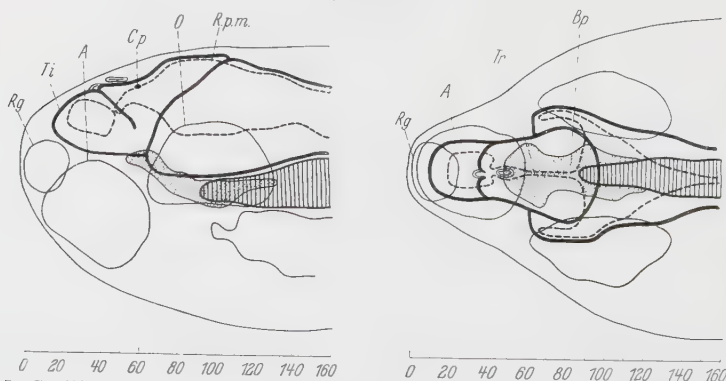


Abb. 7. Sagittale und frontale Rekonstruktion eines Keimes mit cyclopischem Defekt (*T. a. 133*). Bezeichnung s. Abb. 1.

ventral konvexen Bogen verlaufende Faserzüge, die die am weitesten ausladenden Enden der Knorpelplatte verbinden (Abb. 6a, b). Der Mandibularknorpel liegt im deuterencephalen Bereich auf Höhe der ersten Chordaanschnitte. Im ganzen

bildet er eine ringförmige Knorpelspange, die sich dorsal öffnet. In diese Öffnung ist die Basalplatte eingelassen. Zwischen den Enden der Knorpelspange spannen sich ebenfalls querverlaufende Muskelbündel aus. In der deuterecephalen Region sind die wesentlichen Kopforgane normal entwickelt.

Als Vertreter einer Larve mit reiner Cyclopie soll *T. a. 133* besprochen werden. Die äußere Form des Kopfes zeigte in noch stärkerer Ausprägung die bei *T. a. 130* erwähnte kegelförmige Zuspitzung. Auf der Ventralseite war nahe dem vorderen Kopfbende ein genau in der Mediane gelegenes Cyclopengauge zu erkennen, caudalwärts davon entsprangen dicht benachbart die beiden Stützer. Die bei der histologischen Untersuchung erhobenen Befunde sind in der Rekonstruktion (Abb. 7) eingetragen. Die archencephalen Hirnabschnitte haben eine weitere Rückbildung erfahren. Das Gehirn beginnt mit einem Telencephalon impar, dessen unpaares Lumen vom übrigen Ventrikelsystem abgeschlossen ist. Dorsal liegt ihm eine kleine Paraphyse auf; der Plexus chorioideus anterior ist rudimentär geblieben. Das Diencephalon ist verkleinert, vor allem auf Kosten der ventralen Anteile. Dorsal sind die Habenulae und die Epiphyse zu erkennen; der Hypothalamus mit dem Recessus opticus, dem Infundibulum und der Hypophyse fehlt. Auch die ventralen Teile des Mesencephalon lassen sich nicht mehr vom Boden des Rautenhirns abgrenzen, während der dorsal liegende Recessus posterior mesencephali noch gut ausgebildet ist. Das Rhombencephalon ist hingegen auch in diesem Falle vollkommen intakt. Die Riechplakode ist unpaar und gegenüber *T. a. 130* kleiner angelegt, und besitzt ein weites, allseits begrenztes Lumen. Das histologisch wohldifferenzierte Cyclopengauge hat keine Verbindung zum Zentralnervensystem (Abb. 8). Parallel zu diesen Veränderungen geht die Reduktion des Neurocranium. Das kraniale Ende der „Trabekelplatte“ liegt auf Höhe der Epiphyse und reicht nur wenig lateralwärts. Ihrer geringen rostralen Ausdehnung nach zu schließen, haben sich nur noch sehr wenige Neuralleistenzellen an ihrem Aufbau beteiligt. Die Ausbildung des Neurocranium gibt so einen direkten Hinweis auf die Reduktion, die das Material der prächordalen Platte betroffen hat. Die in die Basalplatte hineinragende Chorda ist normal gebaut; auf der gleichen Höhe tritt auch der blind endigende Darm auf. Die ektodermale Mundbucht und eine Mundöffnung fehlen. Die Mandibularregion zeigt die gleichen Eigentümlichkeiten wie bei *T. a. 130*.

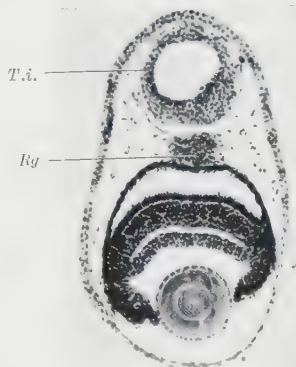


Abb. 8. Querschnitt durch die Augenregion eines Keimes mit Cyclopie (*T. a. 133*).

T.i. Telencephalon impar,
Rg Riechgrübchen.

Zusammenfassend finden wir bei Larven mit mittelgradiger Mikrocephalie eine mangelhafte Ausbildung der ganzen archencephalen Kopfregion. Im Telencephalon unterbleibt das Auswachsen der Hemisphären. Die Riechplakoden sind zu einer unpaaren Anlage reduziert, die durch einen oder zwei nahe der Medianebene verlaufende Nn. olfactorii mit dem Telencephalon impar in Verbindung stehen. Im Diencephalon ist regelmäßig der Hypothalamus von der Störung betroffen; die Augen zeigen wechselnde Grade von Synophthalmie und Cyclopie mit Fehlen des Fasciculus opticus. Von besonderem Interesse ist die

Differenzierung des Neurocranium und des Kopfdarms, da bei dem Eingriff das normale Anlagematerial dieser Organe entfernt wurde und dieses, als der eigentliche Induktor, bei der Genese der Mikrocephalie die entscheidende Rolle spielt. Das Neurocranium ist zusammen mit der Mandibularregion in allen Fällen reduziert; der Kopfdarm erreicht häufig die Epidermis nicht, so daß die Ausbildung der ektodermalen Mundbucht unterbleibt. Im Deuterencephalon dagegen entspricht der ausnahmslos normal gebauten Unterlagerung eine typische Gliederung des Gehirns und der Ohrbläschen.

c) Hochgradige Mikrocephalie.

Zu dieser Gruppe werden nur Keime gerechnet, bei denen die Störung in der Ausbildung der Kopforgane bis in den deuterencephalen Bereich ausgedehnt ist. Das Archencephalon kann dabei stark verkümmert sein (*T. a.* 84) oder es ist ganz ausgefallen (*T. a.* 118).

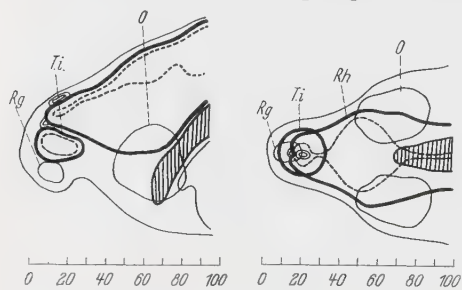


Abb. 9. Sagittale und frontale Rekonstruktion eines hochgradig mikrocephalen Keimes (*T. a.* 84). Bezeichnung s. Abb. 1.

T. a. 84 wurde nach dem Schema D (Abb. 18, S. 366) operiert, gastrulierte normal, zeigte aber schon als junge Neurula eine beträchtliche Verschmälerung der kranialen Abschnitte der Medullarplatte. Auf dem Schwanzknospenstadium hatte der Kopf die Form

eines ventralwärts abgebogenen Hakens. Der Keim konnte durch 3 Wochen weitergezüchtet werden, wies bei der Fixation aber einen Entwicklungsrückstand gegenüber den Kontrollen auf. Das vordere Kopfende saß dem übrigen Körper büzelartig auf, Augen und Stützer fehlten. Die Kiemen waren bis auf einige Stummel reduziert, rostral davon schimmerten auf der Ventralseite zwei einander genäherte Ohrbläschen durch die Epidermis.

Bei der Schnittuntersuchung muß dem allgemeinen Entwicklungsrückstand Rechnung getragen werden. So ist vor allem der knorpelige Anteil des Neurocranium ungenügend differenziert; an der Ventralfläche des Gehirns findet sich ein runder Strang aus dicht gelagerten kleinen Zellen, die noch keinen Knorpel gebildet haben. Sie sind deshalb in der Rekonstruktion (Abb. 9) nicht angegeben. Der Kopf ist nur halb so lang wie bei der Kontrolle (vgl. Abb. 1). Sämtliche Hirnabschnitte zeigen sowohl in der äußeren Form wie auf dem Querschnittsbild eine mangelhafte Entwicklung. Ventral von dem kleinen Telencephalon impar liegt ein rudimentär gebliebenes Riechgrübchen. Ein N. olfactorius kann auf den Schnitten nicht gefunden werden. Am Übergang zum Diencephalon findet sich dorsal die Paraphyse; die Habenula und die Epiphyse sind ebenfalls abzugrenzen. Diencephalon und Mesencephalon erinnern im Aufbau an ein Neuralrohr vom Basalmassentypus. An der Ventralfläche verlaufen die Commissurenfasern. Der Ventrikel liegt dorsal als quergestellter Spaltraum. Seine seitliche Ausweitung markiert den Anfang des Rhombencephalon, dem die Aurikel und die Recessus laterales fehlen. Auf dem Querschnitt durch das Rhombencephalon sind ein Suleus

longitudinalis medialis und die ventralen Kommissuren zu erkennen (Abb. 10). Ventrolateral legen sich dem Rautenhirn beidseits die Ohrbläschen an, deren Größe und Differenzierung ebenfalls hinter den Kontrollen zurückgeblieben ist. Vom Rumpf her schiebt sich zwischen die Ohrbläschen die Chorda, deren Vorderende ventralwärts abgebogen ist (Abb. 9). Der Darm beginnt erst auf Höhe des caudalen Poles der Ohrbläschen und setzt sich in einen stark mißbildeten Kiemendarm fort. Die Knorpelspangen des Viszeralskeletts sind unregelmäßig in die ventrale Wand des Kiemendarmes eingelagert, die Kiemenspalten sind nach außen durchgebrochen; eine Mundöffnung fehlt. Im Rumpfgebiet ist die Chorda von den Somiten flankiert, das Rückenmark zeigt eine normale Gliederung.

Die in *T. a. 84* beschriebene Otocephalie wurde auch bei der Larve *T. a. 118* beobachtet, bei der der Defekt nach der im Schema für die Reihe C angegebenen Art und Weise gesetzt wurde. Das Vorderende des 3 Wochen alten Keimes hatte die Form einer von vorne her abgeplatteten Halbkugel. Im Gegensatz zu den oben besprochenen Fällen wies er eine Mundöffnung auf, seitlich waren am Kopf 3 Kiemenpaare zu sehen. Kopf und Rumpfregeion waren stark hydropisch aufgetrieben, der Keim konnte aber in lebensfrischem Zustand fixiert werden und ist histologisch voll ausdifferenziert. Die Schnittuntersuchung zeigt ein Fehlen der archencephalen Hirnabschnitte (Abb. 11). Das Gehirn beginnt mit einem rudimentären Rhombencephalon, das auf dem Querschnitteinem Neuralrohr vom Basalmassentypus gleicht (Abb. 12). Aurikel und Recessus laterales fehlen, der Ventrikel bildet einen schmalen, dorsal von einer einschichtigen Zellaage bedeckten Spalt, der sich über die ganze Breite des Gehirns ausdehnt. Er besitzt keine Verbindung zum Zentralkanal des Rückenmarks. Die caudal anschließende Medulla oblongata übertrifft im Kaliber das Rückenmark nur unwesentlich und geht kontinuierlich in dieses über. Die gut ausgebildeten Ohrbläschen überragen den Vorderrand des Gehirns und sind durch einen Knorpelstab, der sich in der Verlängerung der Chorda nach vorne schiebt, voneinander getrennt. Chordaspitze und das rostrale Ende des Gehirns liegen auf gleicher Höhe. Der Kiemendarm ist rostral nach außen durchgebrochen, in seiner ventralen Wandung liegen als V-förmige Spangen die stark verkümmerten Viszeralknorpel. Die Rumpfgliederung ist mit Ausnahme des allgemeinen Hydrops normal ausgebildet.

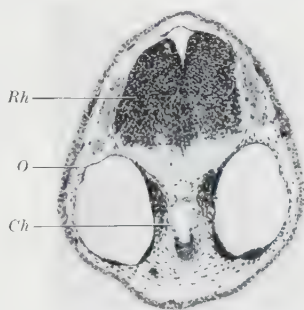


Abb. 10. Querschnitt durch den Kopf von *T. a. 84* auf Ohrbläschenhöhe. Ausgeprägte Otocephalie.
Rh Rhombencephalon,
O Ohrbläschen,
Ch Chorda dorsalis.

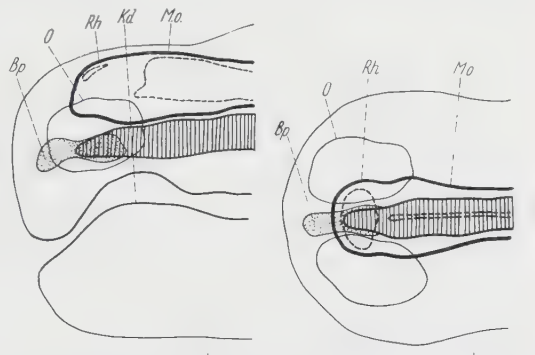


Abb. 11. Sagittale und frontale Rekonstruktion der Kopfgliederung von *T. a. 118*, Bezeichnung s. Abb. 1,
Kd Kiemendarm, Mo. Medulla oblongata.

Als letzter Keim soll *T. a. 83* besprochen werden. Er stellt in unserm gesamten Material einen Einzelfall dar, bietet aber manche Besonderheiten, die eine eingehende Beschreibung rechtfertigen. Der Defekt wurde wie bei *T. a. 118* entsprechend dem Schema C gesetzt. Nach 150 Std war die Larve im vorderen Rumpfgebiet fast rechtwinklig nach dorsal durchgebogen, der Kopf war von beiden Seiten her abgeplattet, ließ aber paarige Riechgrübchen und Augenanlagen erkennen. Die Knickung des Rumpfes glich sich in der weiteren Entwicklung wieder aus, die vordere Rumpfregion blieb aber gegenüber der Kontrolle verkürzt. Die rostralen Kopfabschnitte waren in der Dorsalansicht verschmälert, die Augen waren zu klein und lagen nahe beieinander. Die Mundöffnung war vorhanden, und der Unterkiefer reichte bis weit nach vorn, so daß die bei andern Keimen mit Synophthalmie beschriebene ventrale Verlagerung der Augen äußerlich nicht zu erkennen war. Die reich verzweigten Kiemenbüschel schmiegteng sich eng der seitlichen Körperwand an und waren mit ihren Enden caudalwärts gerichtet. Die Durchsicht der Schnittserie ergab bedeutend schwerere Veränderungen, als nach der äußeren Kopfform zu vermuten waren. Der Defekt liegt jedoch nicht in der vordersten Kopfregion, sondern hat

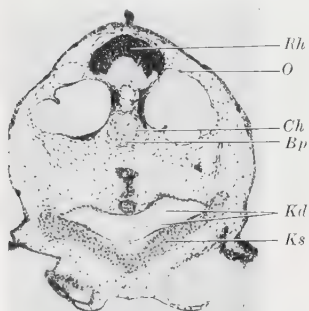


Abb. 12. Querschnitt durch die vordere Kopfregion von *T. a. 118*. Otocephalie. Bezeichnung s. Abb. 1. *Kd* Kiemenarm, *Ks* Knorpelspange.

seinen Schwerpunkt weiter hinten und reicht bis ins Rumpfgebiet (Abb. 13). Das Telencephalon besitzt 2 Hemisphären, die ähnlich wie bei *T. a. 124* das Telencephalon impar vorne teilweise unbedeckt lassen. Ihr Lumen ist sehr weit und wird durch die von dorsal her einspringende sagittale Falte des

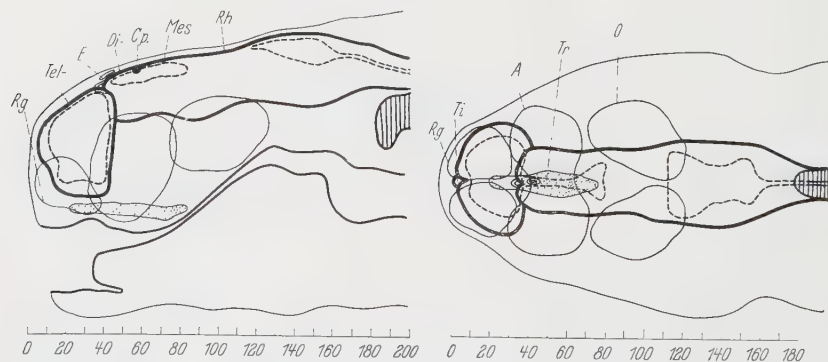


Abb. 13. Sagittale und frontale Rekonstruktion von *T. a. 83*. Bezeichnung wie Abb. 1.

Plexus chorioideus anterior unvollständig in 2 Hälften unterteilt (Abb. 14). In den Plexus hinein ragt die Paraphyse. Ventral vom Telencephalon finden sich eng benachbart die beiden Riechplakoden, deren Lumen sich nach außen öffnet und durch die Choanen mit der Mundhöhle in Verbindung steht. Diese ist schmal, im Unterkiefer liegen die Mandibularknorpel und auf ein enges Feld zusammengedrückte Zähne (Abb. 14). Am Übergang ins Diencephalon nimmt das Kaliber des Gehirns ganz unvermittelt ab. Das Telencephalon ist vom Diencephalon fast vollständig abgesetzt, die Ventrikel stehen nicht mitein-

ander in Verbindung. Das Diencephalon zeigt einen ausgesprochenen Basalmassentypus mit einer kleinen, auf dem Querschnitt runden und dorsal gelegenen Ventrikellichtung (Abb. 15). Seiner dorsalen Fläche liegt weit rostral eine kleine Epiphyse auf. Der Hypothalamus und die Hypophyse fehlen. Auch dieser Keim zeigt eine ausgesprochene Synophthalmie, die aber in der Form von *T. a.* 130 abweicht, da sich in diesem Falle eine ektodermale Mundbucht entwickelt hat (vgl. Abb. 5a und Abb. 15). Eine dünne Commissura posterior bezeichnet dorsal den Anfang des Mesencephalon, in dem der 3. Ventrikel blind endigt. Die Stelle, an der das Gehirn die Form eines runden, durch Ganglienzellen und Fasermassen ausgefüllten Stabes annimmt, fällt mit dem Übergang ins Rhombencephalon zusammen. Der 4. Ventrikel beginnt erst auf Höhe des caudalen Drittels der Ohrbläschen. Diese liegen ventrolateral dem Rautenhirn an und sind einander bis

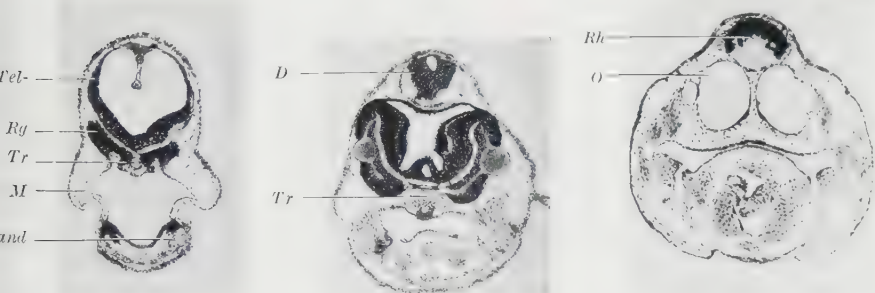


Abb. 14.

Abb. 15.

Abb. 16.

Abb. 14. Querschnitt durch Telencephalon und Riechplakoden von *T. a.* 83. *M* Mundhöhle. *Tel-* Telencephalon, *Rg* Riechgrübchen, *Tr* Trabekel, *M* Mundhöhle, *Mand* Mandibula.

Abb. 15. Querschnitt durch die Augenregion von *T. a.* 83.

Di Diencephalon, *Tr* Trabekel.

Abb. 16. Querschnitt durch die Labyrinthregion von *T. a.* 83, Otocephalie.

Rh Rhombencephalon, *O* Ohrbläschen.

zur Berührung genähert, so daß wir auch hier von einer Otocephalie sprechen müssen (Abb. 16). Die Medulla oblongata verjüngt sich caudalwärts konisch und geht in ein Rückenmark über, das in den ersten Rumpfsegmenten noch einen ausgeprägten Basalmassentypus aufweist. Die Ausbildung des Neurocranium erklärt den eigenartigen Reduktionstypus, den das Gehirn und die Sinnesorgane dieses Keimes erfahren haben. Im archencephalen Bereich trifft man einen unpaaren Knorpelstab, der offenbar aus der Anlage der Trabekel hervorgegangen ist. Er berührt die Unterfläche des Telencephalon und reicht rostralwärts ein Stück weit zwischen die Riechplakoden. Caudalwärts hält er sich nun nicht an die Ventralfläche des Gehirns, sondern ist durch die in der Mediane verschmolzenen Augen vom Hypothalamus abgedrängt. Er endet in der Nähe der Mandibularknorpel, deren dorsale Enden sich in der Mediane berühren. Die Basalplatte und die Chorda fehlen im ganzen deuterencephalen Bereich; die Chorda tritt erst caudal von der Vornierenanlage auf und ist mit ihrem Vorderende ventralwärts abgebogen. Ventral vom Rautenhirn und den Ohrbläschen liegt nur der gut entwickelte Kiemendarm. In den vorderen Rumpfsegmenten sind die Myotome unter dem Neuralrohr verschmolzen. Mit dem Auftreten der Chorda normalisiert sich das Querschnittsbild des Rückenmarkes. Unabhängig von diesem gewaltigen Defekt im Neurocranium hat sich aber das Entoderm bis zur Berührung mit der Kopfeidermis nach vorne

geschoben und dort die Bildung der ektodermalen Mundbucht ausgelöst. Offenbar wurden damit auch die Bedingungen geschaffen, die für die normale Anordnung des aus dem Neuralleistenmaterial aufgebauten Viszeralskeletts notwendig sind, so daß der Kiemendarm nur geringfügige Abweichungen von den Kontrollen zeigt.

Die Kopfausbildung dieser Larve kann mit der Annahme, daß der archencephale Induktor nur wenig, der deuterencephale aber schwer geschädigt war, befriedigend erklärt werden; und der Aufbau des aus dem Urdarmdach herzuleitenden Neurocranium legt es nahe, diesen Schluß zu ziehen. Ein ähnlicher Fall, der aber nur eine leichtere, isolierte Reduktion im Deuterencephalon und in den ersten Rumpfsegmenten erfahren hat, wurde ebenfalls in Serie C bei *T. a.* 155 beobachtet. Es muß aber nochmals hervorgehoben werden, daß es sich dabei um Einzelfälle handelt, bei deren Entwicklung besondere, im einzelnen nicht übersehbare Umstände bei der Wundheilung und der Gastrulation eine Rolle gespielt haben mögen.

Es versteht sich von selbst, daß in den besprochenen Keimen nicht alle Möglichkeiten der Gestaltung mikrocephaler Reduktionstypen erschöpft sind. Jeder Einzelfall kann wieder Besonderheiten zeigen, die für ein Teilproblem aus dem großen Fragenkomplex der Determination der Kopforgane von Interesse sind. Wir werden in der Diskussion auf einige dieser Fragen zurückkommen. Einige für das ganze, uns zur Verfügung stehende Material geltende allgemeine Gesetzmäßigkeiten sollen aber schon jetzt hervorgehoben werden. Die durch den Defekt im Kopforganisator der jungen Gastrula gesetzte Störung manifestiert sich zuerst in den rostralen Kopfabschnitten, also im archencephalen Bereich. Mit zunehmender Schwere dehnt sie sich weiter aus, um sich schließlich bis ins Deuterencephalon und in die vorderen Rumpfsegmente zu erstrecken. Diese Beobachtung fügt sich gut in die Vorstellung eines kranio-caudalen Gefälles im Organisatormaterial ein. Die höchste Stufe ist am empfindlichsten und wird am häufigsten von der Störung betroffen. Neben diesem kranio-caudalen wird auch ein dorso-ventrales Gefälle beschrieben. Eine Einschränkung in dieser Richtung muß sich zuerst in den ventralen Abschnitten des Hirnrohres bemerkbar machen, die auf dem Stadium der Medullarplatte in deren medianen Partien zu suchen sind. Die auffallend häufige Reduktion des Hypothalamus und der ventralen Partien des Mesencephalon ist wohl diesem Umstand zuzuschreiben. Aber auch die paarig ausgebildeten Sinnesorgane und Gehirnteile werden bei einer Reduktion in dorso-ventraler Richtung in Mitleidenschaft gezogen und zeigen Mißbildungen im Sinne eines Verlustes der Hemisphären, von Monorhinie, cyclopischem Defekt und Otocephalie. In der Regel sind beide Vorgänge miteinander gekoppelt. Diese Überlegungen rechtfertigen die bei der nun folgenden

zahlenmäßigen Auswertung der verschiedenen Operationsserien vorgenommene Klassierung der Defektkeime, die an Hand der gegebenen Beispiele schon ausführlich dargestellt wurde.

d) Resultate der 4 Versuchsreihen.

Für die Anlage der Defekte war der 1942 von PASTEELS aufgestellte Anlageplan für Amblystoma maßgebend (Abb. 17b). In den Grundzügen stimmt dieser mit dem berühmten VOGTSchen Schema überein (Abb. 17a). Die Nachprüfung durch PASTEELS hat aber vor allem in dem für unsere Versuche entscheidenden Gebiet einige Abweichungen ergeben. Das

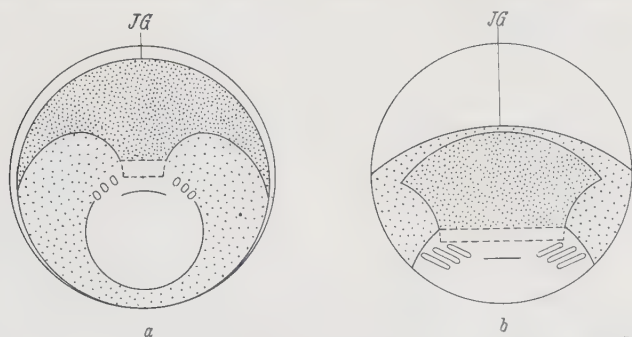


Abb. 17a u. b. Anlageschema für die junge Gastrula von Amblystoma. a Nach VOGT, b nach PASTEELS umgezeichnet. JG: Invaginationsgrenze, gestrichelt abgegrenzt = prä-chordale Platte, dicht punktiert = Chorda, locker punktiert = Somiten.

präsumptive ChordaaREAL ist in der Nähe des Urmundes bedeutend breiter als von VOGT angenommen wurde, und reicht auf beiden Seiten bis zum 30°-Meridian. Die nach VOGT weit ausladenden Seitenhörner des Chordafeldes sind auf der Karte von PASTEELS dagegen stark verkürzt eingezeichnet. Als weiterer wesentlicher Punkt wurde gefunden, daß der Chordabezirk animalwärts nicht direkt an das Ektoderm grenzt, sondern durch einen Streifen Somitenmaterial von diesem getrennt wird. Diese Korrektur wurde bereits 1938 durch NAKAMURA angebracht (zit. nach PASTEELS). Die prächordale Platte läßt sich durch Vitalmarkierung in der Keimoberfläche nicht anfärben, woraus geschlossen werden muß, daß ihr Material schon bei ganz jungen Gastrulae mehr in der Tiefe liegt. Ihre ungefähre Ausdehnung ist in den Schemata deshalb gestrichelt angegeben.

Über die genaue Lage und Größe der Defekte orientiert die Abb. 18. Die 4 Versuchsreihen lassen sich in 2 Gruppen aufteilen. In Serie A, B und C wurde ein in der Größe zunehmender quadratischer Defekt in der dorsalen Urmundlippe gesetzt, wobei die Urmundfurche, das präsumptive Kopftoderm und ein großer Teil der prächordalen Platte stehen blieb. Bei der Operation der Serie D wurde mit einem großen Teil der dorsalen

Urmundlippe das Urmundgrübchen mit dem angrenzenden Kopftentorium entfernt. Diese Serie entspricht ungefähr den Defekten, die TÖNDURY 1937 am gleichen Material gesetzt hat.

Tabelle 1 faßt die Resultate der Versuche zusammen. Für jede Serie werden die Zahlen der normalen und der verschiedengradig mikrocephalen Keime aufgeführt, die außerdem in Prozente umgerechnet wurden, um den Vergleich zwischen den Serien zu erleichtern. Die letzte Kolonne gibt die Zahl der Keime mit Spina bifida an, die Prozentwerte dieser Reihe sind direkt auf die Zahl der untersuchten Keime bezogen.

Eine erste Tatsache, die aus den Zahlen ersichtlich wird, ist die relativ große Häufigkeit der Larven, bei denen der gesetzte Defekt voll-

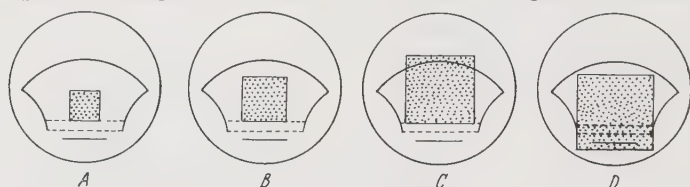


Abb. 18 A—D. Schemata für die 4 Operationstypen, eingezeichnet auf dem Anlageplan von PASTEELS. Punktierte Zone = Ausdehnung der Defekte.

ständig reguliert wurde. Bei dem kleinen Defekt der Serie A, in der noch 63,7% normale Larven gefunden wurden, mag das nicht so sehr überraschen. Es ist aber erstaunlich, daß in Serie C und vor allem in D, in der praktisch der ganze präsumptive Kopforganisator entfernt wurde, immer noch normale Keime und eine größere Zahl geringgradiger Reduktionstypen aufgetreten sind. Zwischen der Defektgröße und der Häufigkeit der Mikrocephalie besteht aber ein klarer Zusammenhang, der im Blockdiagramm (Abb. 19) noch eindrücklicher hervortritt.

Die Fläche des Defektes B ist gegenüber A um den Faktor 2,25 vergrößert, die Zahl der mikrocephalen Keime ist von 36 auf 70% vermehrt. Die weitere Ausdehnung des Defektes in der Serie C, dessen Fläche nun

Tabelle 1.

Serie	Zahl der untersuchten Keime	Normale Larven	Mikrocephalie			Spina bifida
			gering	mittel	hochgradig	
A	19	12	3	2	2	3
	100%	63,7	15,7	10,4	10,4	15,7
B	30	9	12	7	2	14
	100%	30,0	40,0	23,3	6,7	46,6
C	14	3	3	6	2	8
	100%	21,4	21,4	42,9	14,3	57,2
D	17	1	8	3	5	0
	100%	5,9	47,1	17,6	29,4	0

4mal größer ist als in A, hat dagegen nur noch eine geringe Zunahme der mikrocephalen Keime auf 78% zur Folge. In Serie D ist der Defekt gleich groß wie in C, liegt aber gegen den vegetativen Pol zu verschoben, so daß das ganze Material der prächordalen Platte und das an die Urmundfurche grenzende Kopfentoderm entfernt wurde. Diese Reihe hat mit 96% die weitaus größte Ausbeute an mikrocephalen Keimen ergeben. Dennoch muß die enorme Regulationsfähigkeit des Urdarmdaches noch einmal betont werden. Unsere Ergebnisse stimmen hier überein mit den Beobachtungen von SHEN (1938) und TÖNDURY (1937).

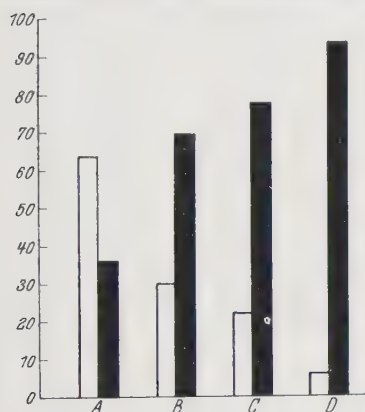


Abb. 19.

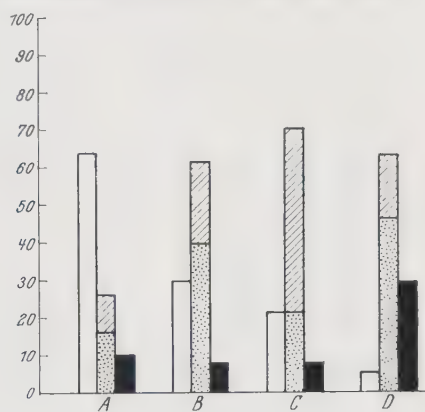


Abb. 20.

Abb. 19. Häufigkeit der normalen und mikrocephalen Larven in Prozent, verteilt auf die 4 Operationsserien. Weiß = normale, schwarz = mikrocephale Larven.

Abb. 20. Prozentuale Häufigkeit der normalen und verschiedengradig mikrocephalen Keime in den 4 Versuchsserien. Weiß = normale Larven, punktiert = geringgradig mikrocephale Larven, schraffiert = mittelgradig mikrocephale Larven, schwarz = hochgradig mikrocephale Larven.

der bei seinen Defektoperationen in 20% Keime mit normalen Kopfanlagen erhielt. Die Lage des von TÖNDURY gewählten Defektes entsprach unserer Serie D, die Ausdehnung war nach der in der betreffenden Arbeit veröffentlichten Operationsskizze (S. 532) etwas kleiner.

Komplizierter werden die Verhältnisse, wenn wir den Normalfällen die Mikrocephalen verteilt auf die drei Reduktionsgrade gegenüberstellen (Blockdiagramm Abb. 20). Bei dieser Aufstellung interessiert vor allem die Frage, ob durch die Variation der Defekte elektiv die archencephale oder die deuterencephale Region getroffen werden kann. Aus diesem Grunde wurden die Säulen, die die prozentuale Häufigkeit gering- und mittelgradiger Mikrocephalie bezeichnen, also Defekte im archencephalen Bereich, aufeinandergestellt. Bei der geringen Anzahl der Keime, die in jeder Serie untersucht werden konnten, muß die Beurteilung mit einer gewissen Vorsicht erfolgen. Immerhin können wir feststellen, daß Serie D gleichzeitig mit der größten Häufigkeit der

Mikrocephalie den größten Prozentsatz hochgradig mikrocephaler Defektkeime aufweist. Ausgehend von der Annahme, daß in Serie C der Defekt im Chordamesoderm, d. h. im deuterencephalen und im spinalen Bereich des Organisators gesetzt wurde, wäre in dieser Reihe der größte Anfall deuterencephaler Defektkeime zu erwarten gewesen. Sie bleibt aber mit 14,3% deutlich hinter den 29,4% der Reihe D zurück. Im Rahmen dieser Frage sind auch die Ergebnisse der Serie D von Bedeutung. Wir können in dieser Reihe mit Sicherheit annehmen, daß das Material der prächordalen Platte, also der archencephale Induktor, entfernt wurde. Dennoch haben die archencephalen Defektkeime gegenüber C nicht in dem Maße überhand genommen, wie zu erwarten war. Um Mißverständnisse zu vermeiden, muß noch darauf hingewiesen werden, daß in der Gruppe der hochgradig mikrocephalen Keime regelmäßig das Archencephalon von der Reduktion mitbetroffen ist. Bei der intensiven Bearbeitung, die diese Probleme in den letzten Jahren erfahren haben, müssen wir für die weitere Behandlung dieser Fragen auf die Diskussion verweisen.

Tabelle 1 und die darauf beruhenden Diagramme wurden auf Grund einer Klassierung gewonnen, die auf die Ausdehnung des Defektes in den beiden großen Kopfregionen ausgerichtet war. Eine Darstellung der Befunde an den wichtigsten Kopforganen, die in Tabelle 2 gegeben wird, soll das daraus gewonnene Bild erweitern und über einige Einzelheiten Aufschluß geben. In dieser Tabelle ist für jede Versuchsreihe die Zahl der Keime, die die in der Kolonne links angeführte Mißbildung zeigen, angegeben. Zu Vergleichszwecken sind diese Zahlen außerdem in Prozente der in jeder Serie untersuchten Larven umgerechnet.

Die gefundenen Werte belegen erneut die Tatsache, daß die schwersten Störungen in der Serie D am häufigsten aufgetreten sind. So werden fehlende Riechplakoden, Anophthalmie, ausgedehnte Reduktion des

Tabelle 2. *Häufigkeit der Mißbildungen an einzelnen Kopforganen.*

	A		B		C		D	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
Telencephalon impar	—	—	8	26,6	7	49,98	6	35,4
Monorhinie	1	5,25	7	23,6	6	42,84	4	23,6
Riechplakoden fehlen	2	10,5	—	—	2	14,28	3	17,7
Synophthalmie	1	5,25	5	16,65	5	35,7	3	17,7
Cyclopie	1	5,25	3	10,0	1	7,14	1	5,9
Anophthalmie	1	5,25	—	—	2	14,28	4	23,6
Reduktion des Hypothalamus mit fehlender Hypophyse .	2	10,5	8	26,6	5	35,7	8	47,2
Mundbucht fehlt	1	5,25	7	23,3	8	28,56	6	35,4
Reduktion des Rhombencephalon	2	10,5	2	6,6	2	14,28	5	29,5
Otocephalie	1	5,25	1	3,3	2	14,28	4	23,6

Hypothalamus, Reduktion des Rhombencephalon und Otocephalie in Reihe D am häufigsten angetroffen. Die ektodermale Mundbucht ist ebenfalls in dieser Reihe im größten Prozentsatz ausgefallen, was im Einklang mit der besonderen Lage des gewählten Defektes steht. Im gesamten fügt sich diese Tabelle gut in das Bild der vorhergehenden Aufstellungen ein, und erhärtet die daraus gezogenen Folgerungen.

Außer der Mikrocephalie haben wir in unserm Material eine größere Zahl von Keimen gefunden, die die als *Spina bifida* bekannte Mißbildung zeigen. Sie ist gekennzeichnet durch eine Spaltung der Achsenorgane in 2 getrennte Anlagen, zwischen denen in der Regel ein nicht von Epidermis bedeckter Teil des Entoderms frei zutage tritt. Die Ausdehnung dieser Spaltbildung wechselt, sie kann schon im Anschluß an das Rautenhirn auftreten oder aber auf die Schwanzknospe beschränkt sein, die durch einen kleinen Dotterpfropf in 2 Anlagen aufgeteilt wird. Auch Fälle, in denen eine weit kranial beginnende *Spina bifida* sich wieder schließt und in eine einheitliche Schwanzanlage ausläuft, wurden beobachtet. Außer diesen schon äußerlich sichtbaren *Spinae bifidae* können auch okkulte Formen festgestellt werden, bei denen z. B. die Chorda in 2 dicht benachbarte, parallel verlaufende Stäbe aufgesplittet ist. Experimentell kann die *Spina bifida* leicht erzeugt werden. GOERTTLER (1926) erzielte sie ebenfalls durch Defekte an der dorsalen Urmundlippe während der Gastrulation. TÖNDURY (1948), HALL (1937), WADDINGTON (1950) u. a. haben sie häufig beobachtet, wenn in die dorsale Urmundlippe junger Gastrulae Material implantiert wird, das nicht über die gleichen Gestaltungstendenzen wie seine Umgebung verfügt, und die Einrollung mechanisch behindert. Die Ursache liegt also in einer Störung der Gastrulationsbewegungen, die zu einer Aufspaltung des invaginierenden Materials in 2 Ströme führt. Wir haben versucht, in unsern Defektversuchen die Bedingungen, die zu einer Aufspaltung des Gastrulationsstörung führen, näher zu analysieren. Eine Aufstellung über die Häufigkeit der *Spina bifida*-Keime in den verschiedenen Operationsserien soll als Grundlage der Besprechung dienen (Blockdiagramm Abb. 21). Auffallend sind die Resultate der Serie D, in der nur in einem Fall andeutungsweise eine auf die Schwanzanlage beschränkte *Spina bifida* aufgetreten ist. Diese Reihe fällt somit völlig

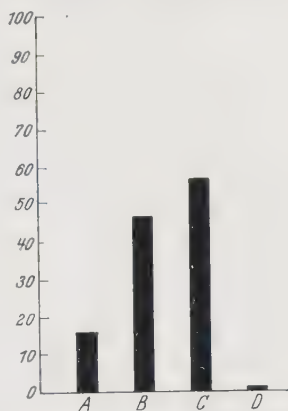


Abb. 21. Prozentuale Häufigkeit von *Spina bifida*-Keimen in den 4 Versuchsreihen. Schwarz = Prozente der Larven mit *Spina bifida*, bezogen auf die Gesamtzahl der in jeder Serie operierten Keime.

aus dem Rahmen der übrigen Ergebnisse. Serie A, B und C zeigen mit dem Größerwerden des gesetzten Defekts eine Zunahme der Spina bifida-Fälle bis auf 57%. Der entscheidende Punkt für die Erklärung dieser Befunde ist wohl darin zu suchen, daß in Reihe A, B und C die Urmundfurche stehen blieb, während sie in D entfernt wurde. An vital-markierten Keimen, die nach dem Schema C und D operiert wurden, konnten die sich an den Eingriff anschließenden Heilungs- und Gastrulationsvorgänge genau verfolgt werden. Nach der Operation D ziehen sich die Wundränder zusammen, es bildet sich ein trichterförmiger Urmund, der später die dem Ablauf der normalen Gastrulation entsprechenden Formveränderungen durchmacht und einen immer kleiner werdenden Dotterpfropf umschließt, der am Schluß der Gastrulation vollständig ins Keiminnere aufgenommen wird. In der Reihe C setzen die Heilungsvorgänge ebenfalls direkt nach der Entnahme ein, werden aber durch die große Einstülpungstendenz der stehengebliebenen Urmundfurche gestört. Das sekundäre Urmundgrübchen hat in der Folge nicht die Form eines Trichters, sondern bildet einen sagittal gestellten Schlitz. Die seitlichen Urmundlippen, die im weiteren Verlauf der Gastrulation auftreten, schließen sich nun an das vegetativwärts gerichtete Ende dieses Spaltes an und weichen von dort aus V-förmig auseinander. Sie fassen zwischen sich eine mehr oder weniger ausgedehnte keilförmige Entodermmasse, die vom Urmund nicht mehr völlig umwachsen werden kann und am Ende der Gastrulation in der Keimoberfläche liegenbleibt. Bei der zu Beginn der Neurulation eintretenden Streckung des Embryo verschmälert sich dieser Keil, trennt aber die Achsenorgane des Keimes in 2 in verschiedener Ausdehnung geteilte Anlagen. Zwischen dem Grad der Gastrulationsstörung und der Mikrocephalie besteht keine feste Beziehung, auch hochgradige Fälle von Spina bifida können einen normal entwickelten Kopf aufweisen. Insgesamt zeigen von 25 Spina bifida-Keimen 5 einen vollkommen ausregulierten Kopf, 10 sind nur geringgradig mikrocephal, 7 mittel- und 3 hochgradig. Bei der Aufstellung der Tabelle 1 wurden diese Keime deshalb gesondert aufgeführt und ihre prozentuale Häufigkeit auf die Zahl der untersuchten Keime bezogen (vgl. S. 366). Daß die beschriebene Gastrulationsstörung in den Reihen A, B und C um so häufiger auftritt, je ausgedehnter der Defekt ist, wird aus dem Gesagten ohne weiteres verständlich und kommt in der graphischen Darstellung (Abb. 21) klar zum Ausdruck.

IV. Diskussion.

Die im vorhergehenden Abschnitt besprochenen Ergebnisse bieten eine Reihe von Befunden, die unter ganz verschiedenen Gesichtspunkten betrachtet von Interesse sind. Ist doch die Frage der Mikrocephalie

an sich ein Problem, das den Mediziner in seiner praktischen Auswirkung immer wieder beschäftigt. Für den Entwicklungsphysiologen sind die Faktoren, die das so komplexe Organgefüge des Kopfes in seiner Entwicklung beherrschen, zu einem beliebten Objekt für die experimentelle Analyse geworden.

Von den zahlreichen Methoden, die im Experiment mikrocephale Defekte hervorrufen können, sollen nur einige der wichtigsten erwähnt werden. Auf mechanischem Wege lassen sich Störungen in der Ausbildung der Achsenorgane und in der Folge auch des Zentralnervensystems durch Zentrifugierung der Eier kurz nach der Befruchtung erreichen (PASTEELS 1940). Die Differenzierungsleistung der Randzone wird durch die durch Zentrifugierung erzwungene Umschichtung des Eimaterials herabgesetzt, und es entsteht eine ganze Reihe von sog. „mikroaxialen Hypomorphosen“, die von einer leichten Reduktion der Kopforgane bis zu einem völligen Fehlen der Achsenorgane geht. Durch mannigfaltige operative Eingriffe kann auf älteren Stadien die Menge des Randzonenmaterials reduziert oder durch indifferentes Material ersetzt werden. Die Defektversuche von LEHMANN, TÖNDURY und SHEN sind bereits in der Einleitung erwähnt worden. Bei den von TÖNDURY (1936) durchgeführten Umkehrtransplantationen wird die dorsale Urmundlippe einer jungen Gastrula gegen Material des animalen Poles ausgetauscht, wobei ebenfalls eine Anzahl der erhaltenen Keime mikrocephale Defekte aufweist. Auch nach dem Ersatz der dorsalen Urmundlippe einer jungen durch eine solche einer fortgeschritteneren Gastrula wird häufig Mikrocephalie beobachtet, eine Versuchsanordnung, die u. a. von HALL (1937), TÖNDURY (1948) und WADDINGTON (1950) gewählt wurde. Gerade im letzteren Falle kann die Genese dieser Mißbildung auf 2 verschiedene Faktoren zurückgeführt werden. Das transplantierte Material kann sich organisch in die Gastrulationsbewegungen des Wirtes einfügen, übt aber auf das überlagernde Ektoderm nicht die gleichen induktiven Einflüsse aus wie ein normales Urdarmdach (HALL 1937). Verfügt das Implantat aber nicht über die gleichen Gestaltungstendenzen wie seine Umgebung, dann resultieren daraus schwere Gastrulationsstörungen, die rein topogenetisch die Ausbildung eines normal gegliederten Urdarmdaches verunmöglichen und dadurch die Determinationsvorgänge des Zentralnervensystems in Mitleidenschaft ziehen. TÖNDURY hat 1948 eine größere Zahl solcher Fälle eingehend analysiert. Auch nach dem Abschluß der Gastrulation können Defekte, die im rostralen Teil des Urdarmdaches der jungen Neurula gesetzt werden, zu Fehlbildungen der Kopforgane und, wie ADELMANN (1937) zeigte, in einem großen Prozentsatz zu Synophthalmie und Cyclopie führen. Die als Folge dieser Eingriffe eintretende Störung hat ihren Sitz immer primär im Urdarmdach, das die präsumptive Medullarplatte unter-

lagert und durch Induktion deren Entwicklungsschicksal in der Richtung auf die neurale Differenzierung festlegt. Eine in ihrer gesamten Ausdehnung oder an einzelnen Stellen gestörte Ausbildung des Urdarmdaches zieht immer entsprechende Defekte in der Medullarplatte nach sich, wie aus den erwähnten Arbeiten übereinstimmend hervorgeht. Eine weitere Bestätigung erfährt diese Feststellung durch die Exogastrulationsversuche von HOLTFRETER (1933), bei denen die Ausbildung der Medullarplatte parallel geht zu der Menge des tatsächlich invaginierten Materials.

Auch auf andersartige Einflüsse scheint das Material des Kopforganisators sehr empfindlich zu sein. So gelang es zunächst DÜRKEN (1933, 1936), durch Bestrahlung der dorsalen Randzone mit ultravioletttem Licht die Differenzierungs- und Induktionsleistungen dieser Zellen herabzusetzen. BRANDES hat 1940 diese Versuche wieder aufgegriffen. Seine an *Discoglossus*, *Axolotl* und *Pleurodeles* gewonnenen Resultate zeigen eine Abhängigkeit der Wirkung von der Dauer der Bestrahlung. Kurzdauernde Exposition führt häufig zu einer Steigerung des morphogenetischen Potentials, d. h. im spinalen Abschnitt zu einer Vergrößerung der Chorda auf Kosten der Somiten. Wird die Bestrahlung länger ausgedehnt, dann wird die Differenzierungsleistung herabgesetzt, analog zum DÜRKENSchen Versuch. Durch sorgfältig dosierte Einwirkung von Röntgenstrahlen auf das Stadium der jungen Gastrula erhielt TRAMPUSCH (1946) wieder ein etwas anderes Erscheinungsbild der Mikrocephalie, das durch eine beträchtliche Größenreduktion der Augenbecher und eine Verkürzung des Gehirns gekennzeichnet ist. Mißbildungen im Sinne des cyclopischen Defekts wurden nicht beobachtet. Schon in diesen Experimenten läßt es sich nicht mit Sicherheit entscheiden, ob die Störung nur am Induktions- oder auch am Reaktionssystem angreift, ein Umstand, der in noch vermehrtem Maße für die stoffliche Beeinflussung dieser Entwicklungsvorgänge gilt. RÜBSAAMEN hat 1949 Mißbildungen am Zentralnervensystem von Tritonkeimen untersucht, die unter Sauerstoffmangel bei Normaldruck aufgezogen wurden und in vielen Fällen Synophthalmie und Cyclopie aufweisen. Wo der primäre Angriffspunkt dieser an sich recht unspezifischen Noxe liegt, ist dabei kaum zu entscheiden. In gewissem Sinne gilt diese Einschränkung auch für das Lithium, dessen eigenartige Wirkung auf die Blastemfelder der Primitiventwicklung in einer großen Zahl von Arbeiten analysiert worden ist. Im Zusammenhang mit unsern Befunden wird auf die Ergebnisse von LEHMANN (1938, 1941), TÖNDURY (1938) und PASTEELS (1945) noch näher einzugehen sein.

Aus all diesen Versuchen geht hervor, daß das Organisatorblastem in seiner Entwicklung eine kritische Phase durchläuft, in der es gegen äußere Einflüsse besonders empfindlich ist. Diese Phase fällt offenbar

in die kurze Zeitspanne zwischen der unsichtbaren Determination und der sichtbaren Formbildung, und scheint im Beginn der Gastrulation ihren Höhepunkt erreicht zu haben. Es überrascht deshalb nicht, wenn nach den mannigfaltigsten äußeren Einflüssen Störungen manifest werden, deren Bauplan in den wesentlichen Punkten übereinstimmt (TÖNDURY 1943). Auch in den Lithiumversuchen fällt das Maximum der Empfindlichkeit mit der ersten Phase der Gastrulation zusammen. Darüber hinaus konnte LEHMANN (1938) nachweisen, daß der genaue Zeitpunkt für das Empfindlichkeitsmaximum für einzelne Bezirke des Organisators verschieden ist. Zu Beginn der Gastrulation scheint der deuterencephale Bereich und die anschließende spinale Region maximal empfindlich, während die sensible Phase für die archencephale Region in etwas weiter fortgeschrittenen Stadien ihren Höhepunkt erreicht. Die Kenntnis dieser sensiblen Phase ist wegleitend für die Interpretation analoger Mißbildungen an Säugetieren und beim Menschen. v. GRUBER hat 1948 den Versuch einer entwicklungsmechanischen Analyse menschlicher Kopfmißbildungen unternommen. Der Bauplan der an niederen Wirbeltieren experimentell hervorgerufenen Mißbildungen stimmt in den Grundzügen mit menschlichen Cyclopen und Otocephalen überein. Der Zeitpunkt, in dem sich die Störung manifestiert, muß deshalb auch beim Menschen in einem Entwicklungsstadium gesucht werden, in dem die Verbindung mit dem mütterlichen Organismus durch das Fehlen eines embryonalen Kreislaufes noch sehr mangelhaft ist. Für die Genese dieser Mißbildungen beim Menschen kommen deshalb nur keimeigene Anomalien, vor allem erbbedingte Zellkernänderungen in Frage. Man ist um so eher berechtigt, diesen Schluß zu ziehen, als es 1933 WRIGHT und WAGNER gelungen ist, auf Grund einer erbbedingten Störung am Meerschweinchen die ganze Stufenreihe dieser Kopfmißbildungen bis zu einer völligen Acephalie zu erhalten.

Zur Frage der Determination des Zentralnervensystems der Amphibien sind in den letzten Jahren von NIEUWKOOP, DALCQ u. a. eine Reihe interessanter Ergebnisse veröffentlicht worden. Die Versuchsanordnung von NIEUWKOOP wurde bereits in der Einleitung geschildert. DALCQ stützt sich auf einen als „Translocation latitudinale“ bezeichneten und an jungen Gastrulae von *Discoglossus* durchgeführten Eingriff. Dabei wird durch einen um den ganzen Umfang des Keimes gelegten Schnitt die animale Kappe von dem vegetativen Sockel getrennt und um 180° gedreht wieder aufgesetzt. Je nach der Lage der Schnittebene wird das Gebiet der dorsalen Randzone in verschiedener Höhe aufgeteilt, und die Gastrulation setzt gleichzeitig an 2 gegenüberliegenden Stellen des Keimes ein. In der Folge entstehen Doppelembryonen, deren Vollständigkeit von der Menge des zuge teilten Randzonenmaterials abhängt, und die unter diesen Gesichtspunkten miteinander verglichen werden.

Eine wechselseitige Beeinflussung der primären und sekundären Embryonalanlagen ist sowohl in den Versuchen von NIEUWKOOP wie von DALCQ nicht auszuschließen, einer der Gründe, die uns veranlaßten, die seinerzeit von TÖNDURY unternommenen Defektversuche weiterzuführen.

Die Defektversuche von LEHMANN, TÖNDURY und SHEN haben gezeigt, daß sich in enger Korrelation mit der Störung der Differenzierung des Urdarmdaches regionale Ausfälle im Nervensystem erzeugen lassen. Mit zunehmendem Alter der Gastrula, der ein Stück dorsaler Urmundlippe entnommen wird, verlagern sich die Defekte von kranial nach caudal. TÖNDURY und SHEN haben auch das große Regulationsvermögen hervorgehoben, das insbesondere den kranialen Abschnitten des Urdarmdaches eigen ist, und z. B. in den Versuchen von TÖNDURY dazu führte, daß trotz einer recht umfangreichen Ausräumung des Urmundgrübchens noch in 20% der Fälle normale Embryonen entstanden. Über die Beziehung der Defektgröße zum Ausbildungsgrad der Kopfmißbildung wird in der Arbeit von SHEN, die hauptsächlich die Auswirkung der Defektoperation an verschiedenen alten Gastrulationsstadien behandelt, nichts Wesentliches ausgesagt. TÖNDURY hat 1937 die Größe des Defektes berücksichtigt, ist aber mehr von der Frage ausgegangen, wieviel Material entfernt werden muß, um schließlich anencephale Keime zu erhalten. Mit der eingangs geschilderten Methodik haben wir nun versucht, genaueren Aufschluß über die quantitativen Verhältnisse zu erhalten. Bei derartigen Defektversuchen muß aber auch ein vollständiger Wundverschluß nach der Entnahme des Materials gefordert werden. Für die Wundheilung hätte sicher ein kreisrunder Defekt die günstigste Ausgangslage geschaffen, war aber mit der von uns geübten Operationstechnik nur schwer in kontrollierbarer Größe zu setzen. Wir haben deshalb quadratische Defekte angelegt, die sich schon wenige Minuten nach der Entnahme abrunden und durch weiteres konzentrisches Zusammenziehen der Wundränder innerhalb 30–60 min vollständig schließen. Durch rechteckige, mit der Längsseite parallel zum Urmund gestellte Defekte hätte sich eine größere Übereinstimmung mit den einzelnen Bezirken des Anlageplanes erreichen lassen. Die in dieser Richtung angestellten Versuche zeigten aber ausnahmslos, daß diese Form des Defektes einen gleichmäßigen Wundverschluß sehr stark beeinträchtigt und zu schwersten Gastrulationsstörungen Anlaß gibt.

In den Resultaten zeigt sich auf den ersten Blick das enorme Regulationsvermögen des Organisatormaterials der jungen Gastrula. Auch nach Entnahme der ganzen präsumptiven prächordalen Platte und eines großen Teiles des präsumptiven Chordamaterials wurden noch Keime beobachtet, die schließlich einen normal großen und wohlproportionierten Kopf entwickeln konnten. Die Wahrscheinlichkeit einer vollständigen Kompensation der durch den Eingriff gesetzten Störung nimmt

erwartungsgemäß mit zunehmender Größe des Defektes ab, wobei wir im einzelnen auf S. 367 und die Darstellung in Abb. 19 verweisen. Im Verhältnis der Zahlen der normalen und der mikrocephalen Keime wird die Beziehung zur Defektgröße offensichtlich. Versuchen wir aber, den Grad der mikrocephalen Störung auf den Umfang des Eingriffes zurückzuführen, dann zeigt sich in den Befunden eine viel größere Schwankungsbreite. Mit einiger Sicherheit läßt sich aus dem kleinen Zahlenmaterial unserer Versuche lediglich aussagen, daß die Größe und Anordnung des Defektes in der Serie D den größten Prozentsatz an hochgradigen Mikrocephalen ergeben hat. Tabelle 1 und 2 belegen diese Feststellung durch die auf Grund unserer Klassierung gefundenen Zahlen und durch eine Übersicht über die Häufigkeit der an einzelnen Kopforgane gefundenen Mißbildungen. Innerhalb der Serien A, B und C sind die Unterschiede jedoch gering und überschneiden sich auch teilweise, so daß ein Kausalzusammenhang mit der Ausdehnung des Eingriffes nicht nachzuweisen ist.

In den vorhergehenden Abschnitten wurde ausführlich dargestellt, nach welchen Kriterien die Klassierung unserer Keime erfolgte, und es fragt sich nun, wieweit diese Gruppeneinteilung gerechtfertigt ist und den tatsächlichen Verhältnissen entspricht. In der Einleitung wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Unterteilung des Kopfes in eine archencephale und eine deuterencephale Region auf die Lithiumversuche LEHMANNs (1938) zurückgeht. TÖNDURY (1937), der bei seinen mikrocephalen Keimen ebenfalls gering-, mittel- und hochgradige Typen unterschied, ist nach anderen Kriterien vorgegangen, teilweise vielleicht deshalb, weil seine Embryonen auf relativ jungen Entwicklungsstadien fixiert wurden. Die Beurteilung der aus dem Urdarmdach hervorgegangenen Organe und der endgültigen Gliederung des Zentralnervensystems wird aber erst bei histologisch ausdifferenzierten Larven möglich. Die von LEHMANN auf Grund der phasenspezifischen Empfindlichkeit gegenüber Lithium vorgeschlagene Gliederung ist u. a. auch von DALCQ und seinen Schülern übernommen worden, wobei allerdings in den Ausdrücken Arencephalon und Chordencephalon neue Bezeichnungen für die gleichen Begriffe eingeführt wurden. Nach DALCQ liegt das Zentrum für die Induktion des Arencephalon in der prächordalen Platte und dem seitlich davon gelegenen mandibularen Mesoderm, dasjenige für das Chordencephalon im vordersten Abschnitt der Chorda und dem seitlich davon gelegenen parachordalen Mesoderm. An der Stelle, wo sich die induktiven Einflüsse der beiden Regionen überschneiden, kommt es zur Ausbildung des Mesencephalon. Durch die bei der „translocation latitudinale“ mögliche Variation der Schnittführung wird den sich ausbildenden Doppelembrionen eine wechselnde Menge des prächordalen Anlagematerials, das auch als pharyngodorsales Blastem bezeichnet wird, zugeteilt. In einigen Arbeiten beschäftigt sich DALCQ (1946, 1947) mit

der Reduktion der acrencephalen Kopfpartigen. Er betont darin die Tatsache, daß als höchste Reduktionsstufe des Prosencephalon eine isolierte Epiphyse gefunden wird. Bei zunehmender Vervollkommnung gesellt sich dieser ein reduziertes Vorderhirnbläschen hinzu, später ein unpaares Riechgrübchen, dann ein unpaares Auge. Erst wenn eine genügende Menge des pharyngodorsalen Blastems zur Verfügung steht, treten paarige Riechgrübchen, synophthalme und schließlich auch vollkommen voneinander getrennte Augen auf. DALCQ ist der Ansicht, daß im Material der prächordalen Platte kein festes Anlagemuster nachzuweisen ist, und nur die Quantität des Materials über den Ausbildungsgrad des Acrencephalon entscheidet. Die bilaterale Symmetrie in den Organen des Prosencephalon ist an eine genügende Menge der prächordalen Platte gebunden. Wesentlich ist die Tatsache, daß auch bei vollständigem Fehlen des Acrencephalon die chordencephale Region normal ausgebildet sein kann, was für die Sonderstellung des acrencephalen Induktors gegenüber der chordencephalen und spinalen Region, die auch als chordamyotomales Blastem zusammengefaßt wird, spricht. Die Frage, ob diese Unterschiede in qualitativen Verschiedenheiten in der Natur des induzierenden Agens begründet sind, oder lediglich auf quantitativen Differenzen in der Produktion eines Induktionsstoffes (Organisin von DALCQ und PASTEELS) beruhen, kann hier nicht näher erläutert werden. Im ganzen gesehen unterstützen diese Befunde die Berechtigung der in unsern Ergebnissen vorgenommenen Klassifikation der Defektkeime, gegen die aber namentlich auf Grund einer Arbeitshypothese von NIEUWKOOP (1947) wieder berechnigte Einwände möglich sind.

NIEUWKOOP führte an seinen, durch Transplantation von dorsaler Urmundlippe in die ventrale Randzone einer andern jungen Gastrula gewonnenen Doppelembryonen eine genaue Analyse der Kopfmißbildungen durch. Sein Material ist deshalb besonders wertvoll, weil es ihm gelang, die Keime bis zur vollständigen histologischen Differenzierung zu züchten. Die von ihm beschriebenen mikrocephalen Larven lassen sich in eine Reihe einordnen, die eine stufenweise Reduktion des Gehirns in cranio-caudaler Richtung erkennen läßt. NIEUWKOOP glaubt, daß mindestens 7 solche Stufen vorhanden sind. Der am weitesten rostralwärts gelegene Hirnabschnitt, der zur Ausbildung gelangt, kann dabei normal oder auch reduziert sein, der darauf folgende ist aber immer vollständig ausgebildet, wenigstens in bezug auf die sog. primären Strukturen. Bei fortschreitender Reduktion können alle diese Abschnitte, auch das Mesencephalon, endständig werden, was im Vergleich zu den Ansichten von LEHMANN und DALCQ bemerkenswert ist. Nach einer von DALCQ geäußerten Vermutung liegt ja das Mesencephalon auf der Grenze der Einflußsphäre des acrencephalen und chordencephalen

Feldes, und diese Annahme läßt die Entstehung eines mit dem Mesencephalon beginnenden Gehirns nur schwer erklären. NIEUWKOOP nimmt zur Deutung seiner Befunde im Urdarmdach ein in cranio-caudaler und dorso-ventraler Richtung ausgedehntes Gradientfeld an, und, im Gegensatz zu den anderen Autoren, ein zweites Gradientfeld in dem zur Neuralbildung kompetenten Ektoderm. Diese Gradientfelder sollen miteinander in Reaktion treten und schließlich zur Ausbildung eines neuralen Feldes im Ektoderm führen, das ebenfalls in kranio-caudaler Richtung abgestuft ist. Diese Stufen verteilen sich auf die gebräuchliche Unterteilung der Hirnabschnitte in der Weise, daß das Tel- und das Metencephalon einem Neuomer entsprechen, das Di- und das Mesencephalon aus 2, und das Myelencephalon aus 3 Neuomeren aufgebaut sind. Die Darstellung von NIEUWKOOP steht in einem gewissen Gegensatz zu den Anschauungen von LEHMANN und DALCQ, der noch betont wird durch die Resultate, die PASTEELS (1945) auf Grund einer Überprüfung der Lithiumwirkung auf die in Frage stehenden Differenzierungsvorgänge der Amphibien veröffentlicht hat. PASTEELS beschreibt ebenfalls eine stufenweise Reduktion des Gehirns in cranio-caudaler Richtung und zieht daraus den Schluß, daß durch das Lithium ein cranio-caudaler Gradient vermindert wird, dessen höchster Wert immer am rostralen Endpunkt zu suchen ist. Die Grundlage für die Beurteilung des Störungsgrades nach seiner Ausdehnung über den archencephalen und den deuterecephalen Bereich wird durch diese Resultate in Frage gestellt. Die Diskussion um die Frage der Lithiumwirkung kann hier nur gestreift werden, während einzelne Punkte der Interpretation NIEUWKOOPS noch genauer besprochen werden müssen. Dazu gehört in erster Linie die Unterteilung des Gehirns und der Sinnesorgane in primäre und sekundäre Strukturen, denn die Aussagen NIEUWKOOPS haben nur für die ersteren Geltung. Zu den primären Strukturen werden die wichtigsten Zentren und Kommissuren gerechnet, die auch bei den reduzierten Gehirnen mit einer großen Konstanz angetroffen werden. Die sekundären Strukturen unterliegen viel leichter einer Reduktion oder können auch ganz zum Ausfall kommen. Zu den letzteren gehören im Telencephalon die Nn. olfactorii, die Riechplakoden und die Hemisphären; im Diencephalon Augen, Chiasma opticum, Infundibulum und Hypophyse; im Myelencephalon die Aurikel und die Ohrbläschen, die allerdings noch ausgebildet werden, wenn nur die caudalen Neuomeren vorhanden sind. Diese Beispiele zeigen, daß NIEUWKOOP unter Umständen noch von einem normalen Diencephalon spricht, während andere Autoren bei Fehlen des Infundibulum und der Hypophyse, kombiniert mit Synophthalmie oder Cyclopie schon einen recht beträchtlichen Reduktionsgrad dieses Hirnabschnittes annehmen. Ein anderer Umstand, dessen Tragweite schwer abzuschätzen ist, ist die Möglichkeit einer

gegenseitigen Beeinflussung der beiden durch dieses Transplantations-experiment gewonnenen Embryonalanlagen. Die Fälle, in denen nicht nur die Kopfanlage des sekundären, sondern auch die des primären Embryo reduziert ist, können nur durch eine solche Wechselwirkung erklärt werden. Wie NIEUWKOOP gezeigt hat, liegen ja auch namentlich im Rumpfggebiet einander entsprechende Organe der Doppelembryonen sehr häufig auf dem gleichen Niveau.

Nach einer genauen Überprüfung der Schnittserien unserer Keime haben wir uns dennoch entschlossen, die Klassierung auf Grund der Gliederung in einen archencephalen und einen deuterencephalen Bereich vorzunehmen. Die Trennung in primäre und sekundäre Strukturen im Sinne NIEUWKOPS wurde nicht durchgeführt, sondern immer das gesamte Gehirn mit den großen Sinnesorganen berücksichtigt. Unter dieser Voraussetzung fällt die große Zahl der Keime auf, bei denen sich am Übergang ins Deuterencephalon das Querschnittsbild plötzlich normalisiert; dies trifft z. B. für die besprochenen Keime *T. a.* 130 und *T. a.* 133 zu (Abb. 4 und 7). Häufig wird auch der archencephale Bereich in seiner ganzen Ausdehnung gleichmäßig von der Reduktion betroffen, wie in fast allen Fällen mit mittelgradiger Mikrocephalie. Mehr zufällig ist vielleicht die Tatsache, daß wir keine Larve finden konnten, die ein endständiges Mesencephalon besitzt. Allerdings ist auch bei den Versuchen von DALCQ diese Möglichkeit anscheinend nie realisiert worden. Ausfälle im deuterencephalen Bereich treten in der Regel erst auf, wenn die archencephale Region stark reduziert (*T. a.* 84, Abb. 9) oder überhaupt nicht angelegt ist (*T. a.* 118, Abb. 11). Gerade *T. a.* 84 illustriert aber einen Fall, in dem trotz der deutlichen Rückbildung im Rhombencephalon alle rostral davon gelegenen Hirnabschnitte — also Mes-, Di- und Telencephalon — wenn auch in extrem reduzierter Form nachzuweisen sind. Insgesamt ließen uns alle diese Überlegungen die vorgenommene Klassierung als sinnvoll erscheinen, und wir sind der Ansicht, daß sie ohne allzu starke Schematisierung den biologischen Tatsachen gerecht wird. Ein Vergleich der verschiedenen Arbeiten zeigt auch, daß je nach der Versuchsanordnung wieder besondere Bedingungen geschaffen werden, die die allgemein gültigen Gesetzmäßigkeiten modifizieren und sicher teilweise für Abweichungen in den Resultaten und den Interpretationen verschiedener Forscher verantwortlich sind.

Die bisherigen Erörterungen nehmen Bezug auf die Regulation des gesetzten Defektes in cranio-caudaler oder, folgerichtig ausgedrückt, in caudo-cranialer Richtung. Die Beobachtung der Neurulation mikrocephaler Keime zeigt aber schon frühzeitig eine gegenüber den Kontrollen auffallende Verschmälerung der Medullarplatte, die nur durch eine verminderte Differenzierungs- und Induktionsleistung des Urdarm-

daches in medio-lateraler bzw. dorso-ventraler Richtung zu erklären ist. Im Chordamesoderm konnte YAMADA (1937) nach Abschluß der Gastrulation ein deutliches dorso-ventrales Gefälle nachweisen. Daß diese Feststellung auch für die rostralen Partien des Urdarmdaches Geltung hat, geht aus Versuchen von RAVEN und KLOOS (1945) sowie von GALLERA (1948) hervor. Mediane und seitliche Partien des vorderen Urdarmdaches wurden dabei im Einsteckexperiment auf ihre Induktionsleistungen geprüft und zeigten quantitative Unterschiede in bezug auf die Differenzierungshöhe der induzierten Organkomplexe. Mediane Stücke erwiesen sich den lateralen deutlich überlegen. Auch die Ergebnisse der Lithiumversuche — die Resultate von LEHMANN und PASTEELS stimmen hier überein — geben Anhaltspunkte für die Existenz eines dorso-ventralen Gefälles. Unter der Wirkung des Lithium fallen zuerst die medianen Strukturen aus und werden durch laterale ersetzt. Im diencephalen Bereich läßt sich dies sehr schön zeigen. Die Blastemfelder, die später die Augenblasen liefern, liegen nahe der Mittellinie in der offenen Medullarplatte (MANCHOT 1929, WOERDEMAN 1929, ADELMANN 1930). ADELMANN (1934) konnte durch Lithiumbehandlung eine große Zahl von Amblystomalärven gewinnen, die Synophthalmie und Cyclopie aufwiesen. Auch Hypothalamus und Hypophyse, die ebenfalls aus dem der Medianlinie benachbarten Material hervorgehen, sind in die Rückbildung einbezogen, während die vor dem Schluß der Neuralrinne lateral gelegenen dorsalen Hirnabschnitte gut differenziert sind. Eine Verminderung des pharyngodorsalen Materials durch operative Eingriffe führt zu analogen Defekten. Das Auftreten einer isolierten Epiphyse und ihr konstantes Vorkommen bei allen archencephalen Reduktionstypen in den Versuchen von DALCQ liefert dafür einen wichtigen Beweis. SPEMANN (1912), DALTROP (1931) und neuerdings VAN DE KAMER (1946) haben nachgewiesen, daß die Epiphyse aus 2 getrennten Anlagen hervorgeht, die symmetrisch an der Stelle der größten seitlichen Ausladung der Neuralplatte liegen und beim Schluß des Neuralrohres zu einem einheitlichen Organ verschmelzen. Diese Anlagen sind in den Versuchen von DALCQ gelegentlich nicht völlig miteinander verschmolzen und geben so Anlaß zu einer Verdoppelung der Epiphyse. Wenn nun alle median angelegten Teile des Prosencephalon ausfallen, kann im extremen Fall eine isolierte Epiphyse auftreten, die unter Umständen ihren Ursprung aus zwei voneinander isolierten Anlagen noch durch eine mehr oder weniger weitgehende Verdoppelung verrät. Isolierte Epiphysen oder eine Verdoppelung dieses Organs haben wir in unseren Keimen allerdings nie gefunden, ihr konstantes Vorkommen auch an einem extrem reduzierten Archencephalon konnten wir aber regelmäßig beobachten. Nach all diesen Ergebnissen ist es verständlich, daß sich auch bei unsern Defektversuchen bei den Regulationsvorgängen zuerst

die Organe durchgesetzt haben, deren Anlagen in den lateralen Partien der Medullarplatte zu suchen sind. Bei der Übereinstimmung der Resultate, die sich in die Ansichten der andern Autoren zwangslos einfügen, erübrigt es sich, näher auf diesen Punkt einzugehen.

Es fragt sich nun, welches Material in den nach der angegebenen Weise operierten Keimen herangezogen wird, um den Ausfall zu kompensieren. Versuche mit Vitalmarkierung, wie sie auch von TÖNDURY (1937) durchgeführt wurden, können uns hierüber Aufschluß geben. Die Analyse der Materialverschiebungen bei der Defektheilung und den Gastrulationsbewegungen zeigt, daß die lateral und dorsal vom Defekt stehengebliebenen Teile der Randzone ausreichen, um die Wunde zu schließen und die Gastrulation zum Abschluß zu bringen. Material der animalen Keimhälfte wird nicht dazu herangezogen. Daß die Ansichten auf einen vollständigen Ersatz um so größer sind, je weniger Material entfernt wird, ist von vornherein zu erwarten und hat sich auch in den Resultaten bestätigt. Ausschlaggebend für den Ablauf der Regulationsvorgänge ist aber auch der Determinationszustand des Organisatormaterials zu Beginn der Gastrulation. Ist das Schicksal des pharyngodorsalen und des chordamyotomalen Blastems endgültig festgelegt, oder können sie bei der Regulation für einander eintreten? Bei der Beurteilung dieser Frage müssen die zeitlichen Verhältnisse im Ablauf der Determinationsvorgänge im Auge behalten werden. Nach der heute üblichen Auffassung spielt sich die Segregation innerhalb des Organisatorblastems während der Gastrulation und im Beginne der Neurulation ab, der erste Schritt scheint dabei die Sonderung in ein archencephales und ein deuterencephales Feld zu sein (vgl. LEHMANN 1948). Die weitere Unterteilung dieser Felder führt zu Arealen für das Tel-, Di-, Mes- und Rhombencephalon, also zu einer Gliederung, die mit den Reduktionsstufen von NIEUWKOOP Ähnlichkeit hat. Den einzelnen Arealen wohnt ein verschiedenes starkes Realisationsvermögen inne, sie treten untereinander in eine physiologische Konkurrenz (SPIEGELMANN 1945). Nach den Befunden von NIEUWKOOP setzen sich dabei die caudalen Hirnteile vor den rostralen durch. Um auf das Ausgangsstadium unserer Versuche zurückzukommen, müssen wir uns demnach die Frage vorlegen, wieweit die Sonderung in diese einzelnen Felder schon fortgeschritten ist. Vom Augenblick des Eingriffes bis zum Manifestwerden der Kopfausbildung treten eine Reihe von Ausgleichsmechanismen in Erscheinung, die gesamthaft in dem Begriff des Regulationsvermögens zusammengefaßt werden. Die Tatsache, daß wir häufig Keime erhielten, die in der ganzen Ausdehnung des archencephalen Bereiches eine gleichmäßige Reduktion erfahren haben, spricht zunächst für die Gültigkeit der Vorstellung, daß auf dem Stadium der jungen Gastrula eine Segregation in ein archencephales und ein deuterence-

phales Feld schon eingetreten ist. Sie fügt sich aber auch gut in die Vorstellung ein, daß die caudalen Abschnitte, in unserer Gliederung das Deuterencephalon, sich in der Entwicklung vor den rostralen Partien durchsetzen. Die archencephale Region erweist sich somit als viel empfindlicher gegenüber dem Eingriff. Versuchen wir aber, den Hauptsitz der Störung mit der Lokalisation des Defektes in Einklang zu bringen, dann werden die Unterschiede so gering, daß wir sie zahlenmäßig nicht sichern können. Auf S. 367 wurden die Resultate der Serien A, B und C denjenigen der Serie D gegenübergestellt. Die ersten 3 Serien unterscheiden sich darin von der Serie D, daß bei ihnen das Material der prächordalen Platte stehenblieb, während es bei D entfernt wurde. Die Resultate haben der Erwartung, daß der Schwerpunkt der Störung bei C im Deuterencephalon, bei D aber im Archencephalon sitzt, nicht entsprochen. Mit Ausnahme von 2 Fällen (vgl. *T. a.* 83, Abb. 13) ist es uns nicht gelungen, durch eine Beschränkung der Materialentnahme auf das chordamyotomale Areal eine lokalisierte Schwächung des deuterencephalen Feldes zu erreichen. Das pharyngodorsale Blastem wird offenbar — unter Verminderung seines morphogenetischen Potentials — bei der Regulation in das chordamyotomale Feld einbezogen, auf Kosten der archencephalen Region, die dann eine mehr oder weniger ausgesprochene Reduktion erfährt. Daß aber auch der umgekehrte Vorgang möglich ist, beweisen die Larven der Serie D, die nur eine leichte Reduktion, eventuell eine ganz normale archencephale Region besitzen. Wie aus Abb. 18 (S. 366) hervorgeht, wurde bei dieser Variation in der Anlage des Defektes das pharyngodorsale Blastem ganz entfernt. Ein Ersatz der prächordalen Platte konnte in diesen Fällen nur vom chordamyotomalen Bereich aus zustande kommen, was einer Steigerung des morphogenetischen Potentials dieses Feldes gleichkommt. Diese Resultate entsprechen somit nicht ganz den Erwartungen, die wir bei der Planung der Experimente hegten, sind aber auch in einigen neueren Arbeiten einwandfrei belegt worden. So beobachteten DALCQ und LALLIER (1948) bei Transplantation von chordamyotomalem Material in die ventrale Randzone junger Gastrulae sekundäre Embryonalanlagen, die archencephale Organe aufwiesen. Ein aufschlußreiches Experiment hat GALLERA (1949) ausgeführt: Aus einer jungen Gastrula wurde das pharyngodorsale und ein Teil des chordamyotomalen Areals getrennt entnommen und jedes für sich ins Blastocöl von 2 anderen jungen Gastrulae gesteckt. Beide Wirte wiesen bei der Fixation an der Bauchseite durch das Implantat induzierte Organkomplexe auf, in denen archencephale Elemente vertreten waren. Eine solche Steigerung des morphogenetischen Potentials tritt um so eher ein, je größer das transplantierte Stück ist; kleine Fragmente werden häufig vollständig assimiliert. So wird auch verständlich, daß sie in den

erwähnten Arbeiten nicht so regelmäßig zu verzeichnen war, wie in unseren Defektversuchen, in denen sich die erhalten gebliebenen Teile der Randzone im Verbande des Ganzkeimes weiterentwickeln konnten und nicht den veränderten Einflüssen einer fremden Umgebung unterworfen wurden. Zusammenfassend zeichnet sich im Schädigungsmuster unserer Keime eine beginnende Segregation des Organisators in ein archencephales und ein deuterencephales Feld ab. Diese Felder besitzen aber noch eine solche Plastizität, daß sie durch Änderung ihres morphogenetischen Potentials ohne weiteres füreinander eintreten können.

In enger Korrelation mit den Mißbildungen am Zentralnervensystem und den Sinnesorganen zeigen auch die übrigen Kopforgane zahlreiche Fehlbildungen. Diese erstrecken sich als primäre Folge des operativen Eingriffes auf das Kopfentoderm und den rostralen Abschnitt des Urdarmdaches. Durch LEHMANN (1926, 1928) und TÖNDURY (1937) sind die Veränderungen der Unterlagerung, die sich im Anschluß an die Defektsetzung einstellen, an jungen Entwicklungsstadien besprochen worden (Neurulae bzw. Schwanzknospen). TÖNDURY fand in 65% aller Keime eine deutliche Reduktion des kleinzelligen mesodermalen Kopfdarmdachmaterials, der Kopfdarm fehlte in 45,5% vollständig. An den histologisch ausdifferenzierten Larven, die hier zur Untersuchung kamen, sind die aus dem Urdarmdach hervorgegangenen Bauelemente des Kopfes klar zu überblicken und zeigen in ihrer Anordnung eine ganz auffallende Analogie zum Reduktionsgrad des Zentralnervensystems. Die Entwicklung ihrer endgültigen Form ist aber sicher das Resultat einer mannigfaltigen Wechselwirkung aller Kopforgane, unter Herbeiziehung von Material aus der Kopfneuralleiste. Infolgedessen wird es schwierig, die endgültige Anordnung direkt auf die primäre Störung zurückzuführen. Im Neurocranium, dessen Ausgestaltung in dem Rekonstruktionen angegeben ist, stammen, wie HÖRSTADIUS und SELLMANN (1946) nachgewiesen haben, die vorderen Abschnitte der Trabekel aus der Neuralleiste. Ihre Anordnung ist abhängig vom Vorhandensein des Prosencephalon. Wird dieses auf dem Schwanzknospenstadium entfernt, dann nähern sich die Trabekel der Mittellinie oder verschmelzen zu einem unpaaren Stab. Für die aus Entomesoderm aufgebauten caudalen Teile der Trabekel und die Basalplatte ist eine solche Korrelation nicht nachgewiesen, bei der auffallenden Übereinstimmung zwischen der Reduktion des Gehirns und der Ausbildung des Neurocranium ist mit einer solchen Möglichkeit aber zu rechnen. So wird das Material, das auf einer frühen Entwicklungsstufe die Neuralplatte induziert hat, in seiner endgültigen Gestaltung von der Entwicklung der von ihm induzierten Organe abhängig. Nach dem in den erwähnten älteren Arbeiten erbrachten Beweismaterial dürfen wir aber annehmen, daß die primäre Störung, die für

die Reduktion all dieser Organe verantwortlich ist, ihren Sitz im Urdarmdach hat.

Auch das Entoderm greift entscheidend in die Formbildungsvorgänge der Kopfreion ein. In der normalen Entwicklung wird das Kopferoderm als kompakte Masse bis zur Berührung mit dem Ektoderm vorgeschoben. Es übt dort einen induktiven Einfluß auf das innere Blatt des Ektoderms aus, und in der Folge schiebt sich diese Zellage wie eine Manschette über das Entoderm ein Stück caudalwärts (ADAMS 1924). Mit der Aufweitung des Kopfdarmes verlagert sich das Lumen auch rostralwärts und bricht schließlich in einer allseitig vom Ektoderm begrenzten Mundöffnung nach außen durch. Im Gebiet der ektodermalen Mundbucht entwickeln sich später die Zahnanlagen und am dorsalen Übergang ins Entoderm die Hypophyse. Ein Fehlen der ektodermalen Mundbucht wurde in unserm Material in 27.5% gefunden; bezogen auf die einzelnen Operationstypen stellt Serie D mit 35.4% den größten Anteil (vgl. Tabelle 2, S. 368). In all diesen Fällen beginnt der Kopfdarm blind meistens auf Höhe der ersten Chordaanschnitte und hat nirgends Kontaktstellen mit der Kopferpidermis. Daß bei extrem reduzierten Keimen unter Umständen eine Kiemenspalte rostral durchbrechen und so eine Mundöffnung vortäuschen kann, wurde an Hand von *T. a.* 118 (S. 361) beschrieben. Warum entsteht aber an dieser Stelle dem ganzen Bau nach eine Kiemenspalte und nicht eine ektodermale Mundbucht? Diese Frage läßt sich durch Befunde aus der bereits zitierten Arbeit von GALLERA (1949) beantworten. GALLERA steckte rostrale Abschnitte des Urdarmdaches junger Neurulae ins Blastocöl junger Gastrulae und erhielt zahlreiche Fälle, in denen sich neben archencephalen Organkomplexen eine ektodermale Mundbucht mit Zahnanlagen entwickelte, die häufig in Verbindung mit dem Entoderm des Wirtes stand. Er nimmt an, daß das Entoderm des Kopfes, das der prächordalen Platte lange dicht anliegt, von dieser mit den Induktionsstoffen versorgt wird, die es zur Induktion der ektodermalen Mundbucht befähigen. Bei *T. a.* 118 fehlen archencephale Organe völlig, die prächordale Platte hat sich also sicher nicht entwickelt, und es ist deshalb auch nicht überraschend, daß trotz direktem Kontakt zwischen Entoderm und Ektoderm keine ektodermale Mundbucht zur Ausbildung kam.

LEHMANN (1938b) hat ferner auf die Bedeutung des Vorderdarmes bei der Entstehung der Cyclopie hingewiesen. Die Aufweitung der vorderen Kopfdarmabschnitte erfolgt autonom, und die Ausbildung der Hyomandibulartasche, die auf dem Schwanzknospenstadium ihren Höhepunkt erreicht, scheint eine Rückwirkung auf die Ausbreitung des Materials der prächordalen Platte zu haben. Fehlt diese Aufweitung, dann erfährt auch die Ausbildung des Anlagemusters in der prächordalen

Platte eine Störung, in deren Folge sich eine mediane Annäherung der Augenblase, eventuell mit Verschmelzung zu Synophthalmie oder Cyclopie einstellt. Da die Hyomandibulartasche bei den Amphibien eine transitorische Bildung darstellt, ist es unmöglich, an älteren Larven ihre Ausbreitung zu beurteilen. Wir konnten aber an mehreren Fällen feststellen, daß sich auch eine ausgeprägte Synophthalmie bei Vorhandensein und normaler Weite der ektodermalen Mundbucht und des Kopfdarmes entwickeln kann. Die Richtung der optischen Achsen ist dabei allerdings verschieden. Während sie bei fehlendem Stomodäum von der Horizontalen um einen mehr oder weniger großen Winkel nach ventral abweicht (vgl. Abb. 5a), liegt sie bei ausgebildeter ektodermaler Mundbucht annähernd in der Frontalebene (Abb. 15).

Für die Ausbildung der Hypophyse scheint, wie NIEUWKOOP (1947) betont, ein dreifacher Kontakt zwischen Gehirn, ektodermaler Mundbucht und Entoderm notwendig zu sein. Bei unsern Keimen fehlt die Hypophyse, wenn die Bildung der ektodermalen Mundbucht ausgeblieben ist. Unter den Larven, die trotz der Ausbildung einer Mundbucht keine Hypophyse besitzen, ist immer der Kontakt zwischen Gehirn und dem Dache der Mundhöhle schon frühzeitig durch die Entwicklung von in der Mediane verschmolzenen Augenanlagen unterbrochen worden (vgl. *T. a.* 83, Abb. 13).

Zur Frage der Zahnentwicklung sind in den letzten Jahren ebenfalls einige experimentelle Beiträge geliefert worden, die schon seit langem strittige Probleme aufgegriffen und teilweise in widersprechender Art und Weise beantwortet haben. Die Zähne der Urodelenlarven setzen sich aus Schmelzorganen, Dentin und Zahnpapillen zusammen. PLATT vermutete schon 1897, daß Odontoblasten und damit das Dentin aus Zellen der Neuralleiste stammen, eine Ansicht, die auch von STONE (1926), RAVEN (1935), DE BEER (1947) und WAGNER (1949) geteilt wird. Über die ektodermale Herkunft der Schmelzorgane besteht kein Zweifel, es fehlt aber nicht an Autoren, die auch dem Entoderm die Fähigkeit zuschreiben, Schmelzorgane zu bilden (ADAMS 1931, DE BEER 1947). WOERDEMAN (1946) vertritt die Auffassung, daß durch die Einwanderung des Mundektoderms alle Gebiete, die Zähne tragen, von diesem bedeckt werden, und damit eine entodermale Bildung von Schmelzorganen nicht zu erwarten ist. SELLMANN (1946) versucht dieses Problem durch kombinierte Transplantationen verschiedener Kopfgewebe in den Rumpf zu lösen. Bei Transplantationen von Mundentoderm + Neuralleiste erhielt er wohl Knorpel, aber keine Zähne; wurden diese Gewebe aber zusammen mit Mundektoderm in die Rumpfregeion gebracht, dann entwickelten sich Knorpel + Zahnanlagen. Für die Zahnbildung scheinen demnach alle 3 Bestandteile notwendig zu sein. Eine Durchsicht der Larven mit fehlender ektodermaler Mundbucht zeigt aber, daß sich in

unserm Material auch bei völliger Abwesenheit von Ektoderm wohl ausgebildete Zahnanlagen entwickelt haben (z. B. im Fall *T. a.* 130 und 133) und damit die Gegenwart des Mundektoderm keinen obligaten Faktor für die Zahnentwicklung darstellt.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit berichtet über Defektoperationen, die an der dorsalen Urmundlippe junger Gastrulae von *Triton alpestris* ausgeführt wurden. Aus früheren Arbeiten war bekannt, daß sich nach derartigen Eingriffen mikrocephale Keime entwickeln. Die große Regulationsfähigkeit der vorderen Abschnitte des Urdarmdaches führte aber immer zu einer mehr oder weniger großen Anzahl normal ausgebildeter oder nur geringgradig mikrocephaler Larven. Durch Variation der Größe und der Lage des Defekts wurde nun der Versuch unternommen, Häufigkeit und Ausbildungsgrad der erhaltenen Störung auf die Ausdehnung des Eingriffes zurückzuführen. Dabei wurden folgende Ergebnisse gefunden:

I. Mit zunehmender Größe des Defekts nimmt die Zahl der mikrocephalen Keime zu. Der größte Prozentsatz (96 %) wurde erhalten, wenn die Urmundfurche mit dem angrenzenden Kopfentoderm, der prächordalen Platte und einem großen Teil des Chordamesoderm entfernt wurde.

II. Die schwersten Störungen sind in der Versuchsreihe aufgetreten, die den größten Anteil mikrocephaler Keime aufzuweisen hat.

III. Die stärkste Reduktion hat in allen Fällen die archencephale Kopfregion erfahren. Sie scheint zu Beginn der Gastrulation am empfindlichsten zu sein; bei hochgradiger Reduktion breitet sich die Störung in caudaler und ventraler Richtung aus. Eine elektive Schädigung des archencephalen und des deuterencephalen Bereiches durch Entfernung des Anlagematerials der prächordalen Platte oder des Chordamesoderms konnte nicht nachgewiesen werden. Diese Blasteme verfügen über eine große Plastizität und können sich bei der Regulation gegenseitig vertreten.

IV. Als Nebenbefund war eine größere Zahl von Fällen mit Spina bifida zu verzeichnen. Sie sind nur in Versuchsserien aufgetreten, in denen bei der Operation die Urmundfurche intakt gelassen wurde. An vitalmarkierten Keimen wurde beobachtet, daß die Materialverschiebung beim Schluß derartiger Defekte zu einer Störung der Gastrulationsvorgänge Anlaß gibt und zur Entstehung dieser Mißbildung führt. Ihre Häufigkeit zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Größe des Defekts.

V. In der Diskussion werden die Resultate mit einigen neueren Arbeiten über die Determination des Zentralnervensystems der Am-

phibien verglichen und spezielle Fragen über die Entwicklung einzelner Kopforgane erörtert.

Herrn Prof. Dr. med. G. TÖNDURY möchte ich für die Überlassung des Themas und seine wertvollen Ratschläge meinen herzlichen Dank aussprechen.

Literatur.

- ADAMS, A. E.: J. of exper. Zool. **40**, 311 (1924); **58**, 147 (1931). — ADELMANN, H. B.: Quart. Rev. Biol. **11**, 161 (1936). — J. of exper. Zool. **67**, 217 (1934); **75**, 199 (1937). — BEER, G. R. DE: Proc. roy. Soc. Lond. B **134**, 377 (1947). — BBANDES, J.: Archives de Biol. **51**, 219 (1940). — CHUANG, H. H.: Roux' Arch. **139**, 556 (1939); **140**, 25 (1940). — DALCQ, A.: Bull. Acad. Méd. Belg. **11**, 99 (1946). — Sixth Growth Symp. **1947**, 85. — Arch. portug. Sci. biol. **9**, 18 (1947). — DALCQ, A., et R. LALLIER: Archives de Biol. **59**, 267 (1948). — DALTROP, A.: Roux' Arch. **127**, 1 (1933). — DÜRKEN, B.: Z. Zool. **114**, 123 (1933); **147**, 295 (1936). — GALLERA, J.: Archives de Biol. **58**, 221 (1948). — Arch. d'Anat. **32**, 121 (1949). — GOERTTLER, K.: Z. Anat. **80**, 283 (1926). — GRUBER, J. v.: Arch. Klaus-Stiftg. **23**, 233 (1948). — HALL, E. K.: Roux' Arch. **135**, 671 (1937). — HOLTRETER, J.: Roux' Arch. **129**, 669 (1933); **134**, 466 (1936); **138** (1938). — HÖRSTADIUS, S.: The neural crest. Oxford university press 1950. — HÖRSTADIUS, S., u. S. SELLMANN: Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis, Ser. 4, **13**, Nr 8 (1946). — KAMER, J. C. VAN DE: Experimentia **2**, 38. — KAPPERS, J. A.: J. comp. Neur. **92**, 93 (1950). — LEHMANN, F. E.: Roux' Arch. **108**, 243 (1926); **113**, 123 (1928); **138**, 106 (1938). — Rev. suisse Zool. **54**, 413 (1938). — Schweiz. med. Wschr. **1941**, Nr 71, 485. — Naturwiss. **30**, 517 (1942). — Einführung in die physiologische Embryologie. Basel: Birkhäuser 1945. — Arch. Klaus-Stiftg. **23**, 568 (1948). — MANCHOT, E.: Roux' Arch. **116**, 689 (1929). — MANGOLD, O.: Naturwiss. **21**, 761 (1933). — NAKAMURA, O.: Zool. Mag., Tokio **50**, 442 (1938). — NIEUWKOOP, P. D.: J. of exper. Biol. **24**, 145 (1947). — PASTEELS, J.: Archives de Biol. **51**, 335 (1940). — J. of exper. Zool. **89**, 255 (1942). — Archives de Biol. **56**, 105 (1945). — PLATT, J. B.: Morph. Jb. **25**, 377 (1897). — RAVEN, C. P.: Roux' Arch. **132**, 509 (1935). — RAVEN, G. P., u. J. KLOOS: Acta neerld. Morph. **5** (1945). — RÜBSAAMEN, H.: Roux' Arch. **143**, 615 (1949). — SCHENK, R.: Rec. suisse Zool. **58**, 529 (1951). — SELLMANN, S.: Odont. Tidskr. **54** (1946). — SHEN, G.: Roux' Arch. **137**, 270 (1938). — SPEMANN, H.: Zool. Jb. **15**, 3 (1912). — Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung. Berlin: Springer 1936. — SPIEGELMANN, S.: Quart. Rev. Biol. **20**, 121 (1945). — STONE, L. S.: J. of exper. Zool. **44**, 95 (1926). — TÖNDURY, G.: Roux' Arch. **134**, 1 (1936); **136**, 529 (1937); **138**, 510 (1938). — Vjschr. naturforsch., Ges. Zürich **88**, 245 (1943). — TOIVONEN, S.: Ann. Acad. Sci. Fenn., Ser. A **55**, 1 (1940). — TRAMPUSCH, H. A. L.: Nederl. Tijdschr. Geneesk. **90** (1946). — WADDINGTON, C. H., and T. YAO: J. of exper. Biol. **27**, 126 (1950). — WAGNER, G.: Rev. suisse Zool. **56**, 519 (1949). — WOERDEMAN, M. W.: Roux' Arch. **116**, 220 (1929). — Experimental Embryology in the Netherlands 1940—1945. Amsterdam u. New York 1946. — WRIGHT and WAGNER: Amer. J. Anat. **54**, 383 (1939). — YAMADA, T.: Roux' Arch. **137**, 151 (1937).

Dr. ROBERT SCHENK, Anatomisches Institut der Universität
Zürich (Schweiz).

